

TESIS DOCTORAL

Prevalencia, diagnóstico y tratamiento de la displasia de alto grado anal asociada a la infección por el Virus del Papiloma Humano en pacientes infectados por el VIH.

-ELENA SENDAGORTA CUDÓS-

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. Pedro Herranz Pinto

Jefe del Servicio de Dermatología del
Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Dr. Juan González García

Jefe de Sección de Medicina Interna del
Hospital Universitario La Paz. Madrid.

TUTOR:

Dr. Damián García-Olmo

Catedrático de Cirugía de la UAM. Madrid.

Madrid, 2015



D. PEDRO HERRANZ PINTO, DOCTOR EN MEDICINA Y
JEFE DE SERVICIO DE DERMATOLOGÍA HOSPITAL LA PAZ

Y

D. JUAN GONZÁLEZ GARCÍA, DOCTOR EN MEDICINA Y
JEFE DE SECCIÓN DE MEDICINA INTERNA HOSPITAL LA PAZ

CERTIFICAN

Que el Proyecto de Investigación: ***“Prevalencia, diagnóstico y tratamiento de la displasia de alto grado anal asociada a la infección por el Virus del Papiloma Humano en pacientes infectados por el VIH”*** ha sido realizado bajo su dirección por Dña. Elena Sendagorta Cudós.

Este trabajo de investigación se ha llevado a cabo gracias a las ayudas del Fondo de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ), la Red de Investigación en SIDA (AIDS Research Network) (RIS) Ref. RD12/0017 y GESIDA/Fundación SEIMC-GESIDA.

En nuestra opinión, el trabajo realizado y los resultados obtenidos reúnen los requisitos de originalidad y rigor metodológico necesarios para ser presentado como Memoria de Tesis Doctoral.

Madrid, 3 de Noviembre 2015

Fdo.: Dr. Pedro Herranz Pinto

Fdo.: Dr. Juan González García

ÍNDICE

ABREVIATURAS	11
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Neoplasia intraepitelial anal y carcinoma epidermoide de ano: Conceptos generales	15
1.2. Etiopatogenia de la neoplasia intraepitelial anal y el carcinoma epidermoide de ano.....	17
1.3. Epidemiología.....	18
1.4. Factores de riesgo para el desarrollo de la neoplasia intraepitelial anal	21
1.5. Historia natural de la neoplasia intraepitelial anal.....	29
1.6. Cribado de la neoplasia intraepitelial anal mediante citología y anoscopia de alta resolución.....	34
1.6.1. Características del cribado mediante citología y anoscopia de alta resolución	34
1.6.2. Introducción del primer trabajo original: “ <i>Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men</i> ”	42
1.7. Mejorando el cribado del HSIL anal	43
1.7.1. Limitaciones en el cribado de la neoplasia intraepitelial anal	43
1.7.2. Introducción al segundo trabajo original “ <i>Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men</i> ”	44
1.8. Tratamiento de la neoplasia intraepitelial anal	45
1.8.1. Panorama actual en el tratamiento tópico de la neoplasia intraepitelial anal	45
1.8.2. El cidofovir como alternativa terapéutica:	49
1.8.3. Introducción al tercer trabajo original “ <i>Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV- infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY)</i> ”	57

2. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS DE LOS TRABAJOS DESARROLLADOS..61

2.1. Líneas de investigación e hipótesis planteadas61

2.2. Objetivos, material y método66

2.2.1. “Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men”66

2.2.2. “Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men”69

2.2.3. “Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV- infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY)”72

3. RESULTADOS83

3.1. Resultados de “Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men”83

3.2 Resultados de “Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men”90

3.3. Resultados de “Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV- infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY GROUP)”97

4. DISCUSIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS105

5. CONCLUSIONES131

6. REFERENCIAS.....135

7. ÍNDICE DE TABLAS165

8. ÍNDICE DE FIGURAS169

ANEXO 1.....171

ANEXO 2.....181

ANEXO 3.....	191
ANEXO 4.....	201
ANEXO 5.....	213
ANEXO 6.....	225
ANEXO 7.....	235
ANEXO 8.....	247

ABREVIATURAS

- AIN: Neoplasia intraepitelial anal.
- AAR: Anoscopia de alta resolución.
- ABC: Área bajo la curva.
- ADVP: Adicto a drogas por vía parenteral.
- ASCUS: Células escamosas de significado incierto.
- CIN: Neoplasia intraepitelial cervical.
- CDC: Center for Disease Control.
- CMV: Citomegalovirus.
- CTCAE: *The Common Terminology Criteria for Adverse Events* v3.0.
- HSH: Hombre que tiene sexo con hombres.
- HSIL: Lesión escamosa intraepitelial de alto grado.
- ITS: Infecciones de transmisión sexual.
- ITT: Intención de tratar.
- LSIL: Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado.
- OR: Odds ratio.
- PAIN: Neoplasia intraepitelial perianal.
- PIN: Neoplasia intraepithelial pene.
- ROC: Características operativas receptor.
- SIL: Lesión escamosa intraepitelial.
- SIR: *Standardised incidence ratio*.

- VAIN: Neoplasia intraepithelial vaginal.
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.
- VIN: Neoplasia intraepitelial vulvar.
- VPH-AR: Virus del papiloma humano de alto riesgo.
- VPH-BR: Virus del papiloma humano de bajo riesgo.
- VPH: Virus del papiloma humano.
- VPN: Valor predictivo negativo.
- VPP: Valor predictivo positivo.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Neoplasia intraepitelial anal y carcinoma epidermoide de ano: Conceptos generales

El carcinoma epidermoide anal es la variante más frecuente de carcinoma anal, siendo mucho más raras otras variantes histológicas como los adenocarcinomas, melanomas, sarcomas y tumores neuroendocrinos⁽¹⁾. La mayoría de los estudios no diferencian estos subtipos histológicos, pero dada la predominancia epidemiológica de la variante epidermoide, los datos disponibles en la literatura acerca de la prevalencia y factores de riesgo se refieren al carcinoma epidermoide anal. Por este motivo se utiliza indistintamente el término “carcinoma anal y “carcinoma epidermoide anal.”

El carcinoma anal es una neoplasia asociada a la infección por el virus del papiloma humano (VPH), que se origina preferentemente en la zona de transformación entre el epitelio escamoso anal y la mucosa rectal⁽²⁾. La definición de carcinoma anal engloba tanto al carcinoma del propio canal como el carcinoma perianal, ya que comparten una misma etiología a pesar de las diferencias en cuanto a evolución, riesgo de diseminación regional y sistémica, y abordaje terapéutico.

En las dos últimas décadas se ha producido un incremento importante en la incidencia del carcinoma anal, de aproximadamente un 2.2% anual⁽³⁾⁽⁴⁾. Este aumento es especialmente notable en poblaciones específicas como los pacientes infectados por el VIH, en los que el riesgo asciende a 60 por cada 100.000 pacientes-año⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾. Dentro de este grupo de población, el riesgo más elevado de carcinoma anal se ha observado en los hombres que tienen sexo con hombres(HSH), las mujeres con antecedente de displasia cervical o vulvar y los pacientes con antecedente de condilomas en el área anogenital⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾. En concreto, el subgrupo más afectado

es el de los HSH infectados por el VIH en los que la prevalencia de cáncer anal es de 92 a 144 por cada 100.000, lo que les convierte en la población diana fundamental de los programas de cribado⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹³⁾⁽¹¹⁾.

El carcinoma anal podría considerarse una neoplasia oportunista en los pacientes infectados por el VIH, originada por la infección crónica por el VPH, y por tanto con una etiopatogenia similar a la de mayoría de carcinomas genitales⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

De forma paralela a lo que ocurre en el cáncer de cérvix, el cáncer anal aparece como una progresión desde lesiones escamosas displásicas de alto grado (neoplasia intraepitelial anal de alto grado [AIN] o lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado [HSIL]) que se desarrollan fundamentalmente en la unión escamocolumnar del epitelio del canal anal. Estas lesiones se producen como consecuencia de la infección por el virus del papiloma humano oncogénico o de alto riesgo (VPH-AR) especialmente el VPH 16⁽⁹⁾⁽¹⁶⁾. Los pacientes HSH, particularmente aquellos infectados por el VIH, tienen mas riesgo de infección anal persistente por VPH-AR, y como consecuencia, la prevalencia de HSIL anal en estos pacientes es extraordinariamente elevada⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽⁹⁾.

Aunque el riesgo de progresión desde HSIL anal hacia un carcinoma invasivo probablemente sea menor y con una mayor latencia temporal que el atribuido a sus análogas cervicales, la aparición de carcinomas invasivos sobre lesiones de HSIL anal no tratadas, está claramente documentada en la literatura, y ocurre de forma más frecuente en pacientes infectados por el VIH⁽⁹⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾.

Los programas de cribado del carcinoma de cérvix mediante citología en la población general se iniciaron en Estados Unidos hace 50 años, y la incidencia de carcinoma invasivo ha disminuido desde entonces desde 35-40 casos/100.00 antes de su generalización, a 8/100.000 tras ella⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. Considerando estos antecedentes y tras observar el aumento en la prevalencia del HSIL anal en HSH infectados

por VIH, cada vez son más los grupos que abogan por instaurar protocolos de cribado en estos pacientes, siguiendo pautas similares a las que se han demostrado eficaces en el cribado cervical⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾. Esta opinión se enfrenta a la de otros autores, que destacan que, hasta el momento actual, las estrategias de cribado no han sido capaces de demostrar un efecto positivo sobre su objetivo final, que sería la reducción de la mortalidad y morbilidad del cáncer anal⁽⁹⁾⁽²⁸⁾. Sin embargo, los protocolos de detección precoz del HSIL anal se justifican si se considera la importancia epidemiológica creciente de estos tumores, que se acompañan de un gran impacto social. Es reconocida además la dificultad del diagnóstico clínico en las fases iniciales de la enfermedad, lo que junto a la elevada morbilidad y dificultad terapéutica de los tumores avanzados (la supervivencia a los 5 años se reduce del 78% al 56% y 18% en los casos de enfermedad localizada, regional o diseminada), respectivamente hacen necesario el desarrollo de herramientas que mejoren la prevención y el diagnóstico precoz de estos tumores, que pueden ser especialmente agresivos en los pacientes infectados por el VIH⁽³⁾⁽²⁹⁾.

1.2. Etiopatogenia de la neoplasia intraepitelial anal y el carcinoma epidermoide de ano

Existe amplia evidencia de que el VPH juega un papel fundamental en la etiopatogenia de hasta el 93% de los carcinomas epidermoides anales⁽³⁰⁾⁽²⁰⁾. Así, tanto en el carcinoma anal, como en su lesión precursora, el HSIL anal, se ha detectado un aumento significativo de los genotipos 16 y 18 del VPH⁽²⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾.

De manera análoga a lo que ocurre en el cérvix, donde el virus infecta el epitelio de la unión escamocolumnar (epitelio de transición), en el canal anal, el virus tiende a infectar la zona de transición entre el epitelio columnar rectal y el epitelio estratificado de la piel, precisamente donde se producirán los cambios displásicos que definen el HSIL anal.

En relación a lo anterior, resulta sencillo entender los factores implicados en la alta incidencia de HSIL anal y carcinoma epidermoide en los pacientes HSH infectados por VIH. Por una parte está bien documentado en la literatura, que los HSH tienen una prevalencia de infección por VPH de hasta el 60%, siendo aún mayor si el paciente está infectado por el VIH, con prevalencias del 93%, y en torno al 80% si consideramos exclusivamente VPH-AR. Ello es debido, al menos en parte, a que en estos pacientes la infección es mucho más persistente en el tiempo⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾⁽³²⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾.

Por otro lado, como se analizará más adelante, se conoce también que el HSIL anal está íntimamente relacionado con la presencia de distintos grados de inmunodepresión, y muy especialmente con la relacionada con la infección por el VIH.

1.3. Epidemiología

El carcinoma epidermoide anal es una neoplasia infrecuente, constituyendo menos de un 5% del total de las neoplasias gastrointestinales. La incidencia ajustada a la edad de carcinoma anal se conoce tan sólo en algunos países occidentales con ratios de 0.7 por 100,000/año en Inglaterra, 0.83 en Holanda, 1.35 en Australia y 1.7 por 100,000/año en EEUU ⁽¹¹⁾⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾. En casi todos los países la incidencia sigue siendo mayor en mujeres en el subgrupo de pacientes por encima de 50 años, pero es mayor en varones en la franja etaria de 20 a 49 años⁽³⁰⁾.

Desafortunadamente no podemos precisar con exactitud la incidencia y prevalencia del mismo en España, por no existir ningún registro oficial que recoja estos datos.

Estudios epidemiológicos recientes en otros países, fundamentalmente en Europa, Estados Unidos y Australia, reflejan un incremento importante en la incidencia del carcinoma epidermoide que se estima que es aproximadamente del 2-3 % anual en los últimos 20 años, especialmente en determinados grupos de riesgo⁽⁸⁾⁽³⁷⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾⁽³⁶⁾. Como ejemplos, en Australia la incidencia aumentó un 50% desde 1982 hasta el año

2005, y en EEUU desde 1.28/100000 en el período o de 1998-2003 a 1.6/100.000 en el período entre 2003 y 2007⁽¹⁾⁽³⁷⁾.

Sin embargo, existen al menos 2 publicaciones que reflejan una tendencia a la estabilización de este aumento en los últimos años. Un estudio reciente llevado a cabo en Holanda, examina la tendencia en la incidencia y factores de riesgo del cáncer anal desde 1995 hasta el año 2012 en la población holandesa infectada por VIH. Tras un aumento de incidencia con un pico entre 2005-2006 de 114/100.000 personas-años en el conjunto de pacientes VIH+ y 168/100.000 en HSH infectados por VIH, en 2011-2012 se observó un descenso a 72/100.000 y 100/100.000 personas-años⁽⁴²⁾. Resulta improbable que este descenso se deba a la introducción de las técnicas de cribado, que no se han generalizado aún en este país. Los autores proponen que el uso precoz de la TARGA en sus pacientes se asocia negativamente con el riesgo HSIL anal, lo que con el tiempo acabaría afectando a la incidencia de cáncer anal⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾. Además dada la tendencia a iniciar TARGA con mayores cifras de linfocitos CD4+ en sangre, la población infectada por VIH cada vez presenta con menos frecuencia cifras bajas de linfocitos CD4+ en sangre, lo que a su vez repercute en un menor riesgo de carcinoma anal⁽⁴²⁾.

Un estudio previo ya había detectado esta posible fase “plateau” en la incidencia de cáncer anal. El pico de incidencia en este estudio fue de 159/100.000 en 2000– 2003 en HSH HIV+ MSM seguido de un descenso a 131/100.000 en 2003-2007⁽⁴⁶⁾.

En cualquier caso, y a diferencia de lo que ocurre en la población general, las cifras de incidencia cambian si analizamos distintos subgrupos poblacionales. De este modo, existen al menos tres poblaciones en las que el riesgo de cáncer anal es claramente superior al resto.

En primer lugar, los pacientes HSH sanos presentan una incidencia de carcinoma anal que asciende a 35 casos cada 100,000 personas⁽²⁾⁽⁴⁷⁾. Aunque esta cifra es la mitad de

la comunicada en pacientes infectados por el VIH, es mayor a la incidencia del cáncer de cérvix en las mujeres antes de la generalización del cribado mediante citología⁽⁴⁸⁾.

En este contexto, estudios de casos-controles han demostrado que el riesgo de cáncer anal es hasta 33 veces superior en HSH que en varones heterosexuales⁽⁴⁹⁾. Como consecuencia, en ciudades como San Francisco, donde la concentración de HSH es elevada, la incidencia de cáncer anal es casi 7 veces mayor que en otras ciudades de California⁽⁵⁰⁾.

En segundo lugar, las mujeres con antecedente de displasia genital asociada al VPH. El riesgo de cáncer anal va ligado al antecedente de otros tumores en la región anogenital, probablemente en relación con la exposición común al VPH por proximidad anatómica. Tanto el cérvix como el canal anal actúan como reservorios que favorecerán la infección mutua por proximidad, independientemente de la localización anatómica inicial de la misma⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾. Así, las pacientes que han presentado una neoplasia en esta región tendrán un riesgo considerablemente mayor al de la población general de presentar una segunda neoplasia en la región anogenital. Un reciente estudio documentó una incidencia de hasta el 12,2% de HSIL anal en pacientes con antecedente de displasia cervical, vulvar o vaginal a las que se sometió a un cribado mediante citología y anoscopia de alta resolución con biopsia⁽⁵³⁾. Este riesgo es mucho mayor en pacientes inmunodeprimidas, especialmente infectadas por el VIH. Cabe destacar que la mayoría de las pacientes que presentan HSIL anal e infección por VPH-AR no practican relaciones sexuales anoreceptivas⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾.

La tercera población de riesgo serían los pacientes inmunodeprimidos, por su dificultad para controlar la infección por VPH. Aunque cualquier paciente inmunodeprimido tiene un riesgo aumentado de cáncer anal, en el grupo poblacional donde existe mayor evidencia es en el de los pacientes infectados por el VIH. Ya en 1986, *Frazer et al.* describieron por primera vez la elevada frecuencia de displasia anal en pacientes infectados por el VIH⁽⁵⁶⁾. Desde entonces cada vez son más sólidas

las evidencias que asocian la infección por VIH con un aumento de la incidencia de infección oncogénica por VPH y la aparición de HSIL anal o tumores invasivos asociados, con independencia del tipo de relación sexual predominante⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁵⁷⁾.

La máxima incidencia de carcinoma anal la encontramos en pacientes HSH infectados por el VIH en los que asciende a 92 a 144 por cada 100.000, lo que les convierte en la población diana fundamental de los programas de cribado⁽⁹⁾⁽⁸⁾⁽¹¹⁾⁽¹³⁾.

Merece también la pena destacar como población de riesgo a los pacientes inmunodeprimidos por causas diferentes a la infección por el VIH, como son los pacientes que han recibido un trasplante de órgano sólido y que por consiguiente siguen un tratamiento inmunosupresor. Concretamente, varios estudios han comunicado tasas de carcinoma anal de hasta diez veces mayor a la población general en pacientes trasplantados renales⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾. En un estudio reciente llevado a cabo en pacientes trasplantados renales se encontró que los factores de riesgo para presentar HSIL en este grupo eran la presencia de VPH-AR ($p < 0.001$), duración de la inmunosupresión ($p = 0.050$), antecedente de verrugas ano-genitales ($P = 0.018$) y relaciones anoreceptivas ($p = 0.013$)⁽⁶⁰⁾.

Dentro de éste último grupo, y aunque existe escasa evidencia en la literatura al respecto, merece la pena destacar la mayor incidencia de infección por VPH-AR y displasia en pacientes con enfermedades crónicas autoinmunes que reciben tratamiento inmunosupresor, como las mujeres con lupus o artritis reumatoide en las que la enfermedad se desarrolla con especial agresividad⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾.

1.4. Factores de riesgo para el desarrollo de la neoplasia intraepitelial anal

La infección por VPH tiene un papel central en la etiopatogenia del cáncer anal. Sin embargo también hay que destacar otros factores etiológicos, muchas veces

coexistentes y cuya interacción supone un aumento indudable del riesgo para la aparición de la enfermedad. Una reciente revisión sistemática de la literatura analizó los factores de riesgo para el desarrollo de carcinoma anal y concluyó que son fundamentalmente los siguientes: HSH (OR=17.3), infección por VIH (OR=28 y 28.75 en dos estudios diferentes), hábito tabáquico (OR=3.9 y 5.0 en varones, OR=3.0 y 3.8 mujeres en dos estudios diferentes), trasplante por órgano sólido (SIR=5.85), antecedente de cáncer cervical (SIR=6.2) o HSIL cervical (SIR=16.4)⁽⁴⁾. La edad también se considera un factor de riesgo para el desarrollo de esta neoplasia⁽⁴²⁾⁽⁴⁶⁾. A continuación se analizan con mayor detalle los factores más importantes.

a) Infección por VPH y VPH-AR.

La infección por genotipos de VPH-AR se asocia etiológicamente al 100% de carcinomas cervicales y a entre el 90-96% de cánceres epidermoides anales⁽⁶⁴⁾. El espectro de genotipos implicados en el carcinoma anal es similar al descrito en cérvix, asociándose a los mismos genotipos de riesgo⁽²⁾. El VPH 16 tiene un papel aún más preponderante en ano que en cérvix, ya que se considera responsable del 50% de los cánceres de cérvix y del 66-90% de los cánceres epidermoides anales⁽²⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁸⁾. Por su parte, el VPH 18 se considera responsable del 6% de los mismos frente al 20% de los cervicales⁽³¹⁾⁽⁶⁹⁾.

La prevalencia de infección anal por VPH difiere en función del género, y en el caso de los varones en función de su orientación sexual⁽⁶⁴⁾. La mayoría de los estudios publicados acerca de la prevalencia de la infección por VPH anal se centran en HSH infectados por el VIH, por lo que los datos en mujeres y hombres heterosexuales son escasos. En un estudio llevado a cabo en 1378 mujeres se estimó una prevalencia de la infección anal por VPH del 27%⁽⁵⁴⁾. Los estudios llevados a cabo en mujeres que comparan la prevalencia de la infección en cérvix y ano demuestran prevalencias comparables en ambas localizaciones, o incluso mayores en ano⁽⁷⁰⁾. Como ocurre con el cérvix, se observa un descenso

en la prevalencia de la infección con la edad, fenómeno que no se observa en hombres heterosexuales⁽⁷¹⁾. Típicamente la infección por VPH anal es más frecuente en mujeres con enfermedad cervical por VPH e infección por VIH⁽⁷²⁾⁽⁷³⁾⁽⁷⁴⁾. Se ha postulado que la infección anal que ocurre en mujeres y hombres que no tienen prácticas anoreceptivas se debe a auto-inoculación del virus⁽⁵⁵⁾.

Entre los varones, la prevalencia de infección por VPH varía ampliamente en función de sus prácticas sexuales. En varones heterosexuales la prevalencia es del 12-13%, aproximadamente la mitad que la observada en mujeres, siendo mayor en pacientes infectados por el VIH⁽⁷¹⁾⁽⁷⁵⁾. Sin embargo en HSH la prevalencia es mucho mayor, con valores de entre 50-61% en pacientes no infectados por el VIH, siendo la prevalencia de VPH 16 del 12%⁽⁹⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾. En HSH infectados por el VIH encontramos los valores más elevados de infección por VPH, con porcentajes de entre el 72 y 93%, con infección por coexistencia de múltiples genotipos hasta en el 73% de los casos, siendo el VPH 16 el más frecuente con una prevalencia de 35.4%⁽⁹⁾⁽³²⁾⁽³⁴⁾⁽⁶⁵⁾. Si tomamos en consideración exclusivamente la infección por genotipos de alto riesgo, la prevalencia es significativamente mayor en HSH infectados por VIH que en HSH no infectados por VIH, 73.5% vs 37.2 % (p:0.005) según el metanálisis de Machalek⁽⁹⁾.

b) Infección por VIH.

La infección por VIH es uno de los factores de riesgo más estudiados para el desarrollo del cáncer anal. Se estima que el riesgo relativo de cáncer anal en HSH infectados por el VIH es de 80.3 (95 % CI 42.7–51.1) comparado con pacientes varones no infectados por el VIH⁽⁴⁶⁾.

Pero también los varones heterosexuales y las mujeres infectados por el VIH tienen un aumento importante del riesgo de cáncer anal⁽⁴⁶⁾. Un análisis de la incidencia de cáncer anal en Francia demostró un ratio de incidencia estandarizada (SIR) en pacientes infectados por VIH respecto a la población

general de 13.1 (95 % CI 6.7–22.8) para mujeres, de 49.2 (95 % CI 33.2–70.3) para varones heterosexuales y de 109.8 (95 % CI 84.6–140.3) para HSH, todos ellos en el período de 2005-2008(39). Un meta-análisis, que incluía datos de 9 estudios, mostró una ratio de incidencia de 45.9 por 100,000 en HSH infectados por VIH comparado con 5.1 por 100,000 en HSH no infectados por VIH⁽⁹⁾.

La asociación entre cáncer anal e infección por VIH es difícil de estudiar, por la presencia de factores de confusión. Por una parte existe una relación entre el cáncer anal y la práctica de relaciones sexuales ano-receptivas. Además los pacientes infectados por VIH presentan con más frecuencia infección por VPH anal que los que no lo están, siendo más frecuente la infección por múltiples genotipos⁽⁹⁾⁽³²⁾. Por otra parte, los pacientes que presentan infección por VPH parecen tener mayor incidencia de infección por VIH⁽⁷⁶⁾.

Los pacientes infectados por VIH, presentan con más frecuencia HSIL anal y presentan una progresión más rápida de HSIL a carcinoma infiltrante⁽⁹⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁷⁷⁾.

Se ha sugerido que el mayor riesgo de cáncer en pacientes infectados por VIH frente a pacientes no infectados por VIH, se debe a diferencias en la biología de la infección por VPH entre ambos grupos⁽²⁾⁽⁷⁷⁾. Se han postulado distintos mecanismos de interacción entre el VIH y el VPH, incluyendo una atenuación de la respuesta celular a los antígenos del VPH en los pacientes infectados por el VIH, una expresión aberrante de las citoquinas (IL-6) que modulan la expresión de los genes del VPH, un aumento en la expresión de factores de crecimiento locales y un efecto directo del VIH sobre la expresión de los oncogenes E6 y E7⁽⁷⁸⁾.

La inmunosupresión probablemente juega un papel, ya que se ha encontrado una correlación entre la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica y la presencia de displasia y cáncer anal⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁶⁵⁾. Otros autores proponen una correlación

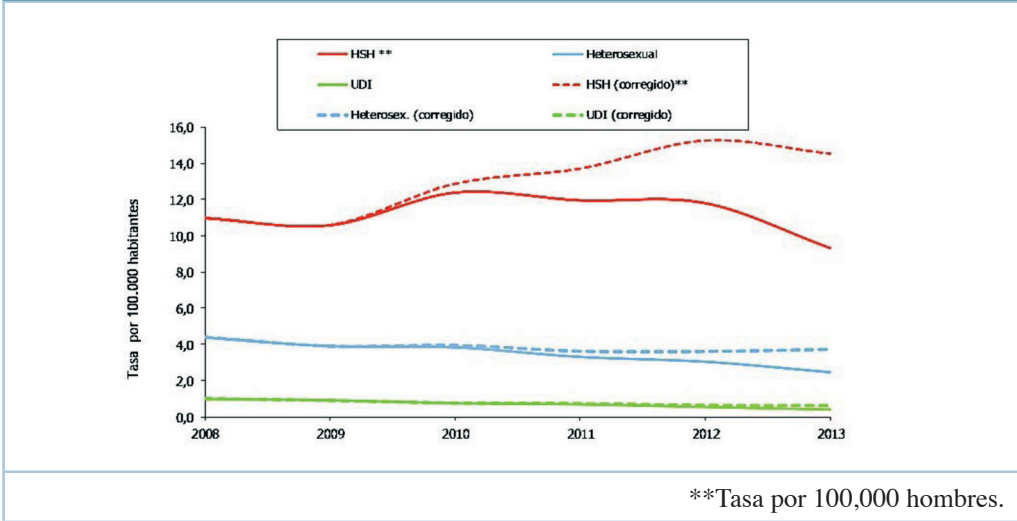
independiente entre el VIH y el cáncer anal⁽⁴⁸⁾, que justificaría el hecho de que incluso en pacientes en un estadio muy precoz de la infección por VIH la incidencia de cáncer anal es mayor a la de la población general. Por tanto, la inmunosupresión causada por el VIH no sería la única explicación para la mayor incidencia de cáncer anal en estos pacientes⁽⁸⁰⁾.

A diferencia de lo ocurrido con otras neoplasias oportunistas asociadas a la infección por el VIH, la incidencia del cáncer anal no ha disminuido tras el uso generalizado de la terapia antiretroviral de alta eficacia (TARGA). La mayoría de los estudios epidemiológicos coinciden en que la incidencia de estos tumores se ha multiplicado desde la introducción de la misma en el año 1996⁽⁶⁾⁽⁸⁾. Un meta-análisis que combina estudios pre-TARGA y post-TARGA demostró un incremento en un 25%, del SIR para cáncer anal en la era TARGA: 37 (95% IC19-75) en la era pre-TARGA vs 47 (95% IC 22-100) en la era TARGA⁽⁸¹⁾. En otro estudio basado en los datos de una cohorte prospectiva de 8640 pacientes infectados por VIH, la incidencia de cáncer anal fue mayor a partir de 1996, tras la introducción de la TARGA, (78 por 100,000 pacientes-año de seguimiento), que antes de 1996 (22 por 100,000 pacientes-año de seguimiento) ($p : 0.013$)⁽⁸⁾.

Dada la larga latencia en la progresión de las lesiones displásicas producidas por el virus del papiloma humano (VPH), el aumento en la incidencia del cáncer anal puede deberse en parte al aumento de la supervivencia de los pacientes VIH tras la introducción de la TARGA, lo que permite una infección persistente y prolongada por el VPH, aumentando las posibilidades de desarrollar un carcinoma anal infiltrante. Posiblemente este aumento en la supervivencia y en la exposición al VPH sobrepasa el presunto efecto beneficioso de la reconstitución inmune que supone el TARGA. Según esta hipótesis el desarrollo del cáncer estaría más relacionado con la infección persistente por VPH que con la interacción con la infección por VIH⁽¹⁷⁾⁽⁸²⁾.

Estudios más recientes apoyan un posible papel protector de la introducción precoz del TARGA en el desarrollo del cáncer anal⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾⁽⁸⁵⁾. Si tenemos en consideración que según dichos estudios el tratamiento precoz y sostenido con TARGA reduce el riesgo de HSIL anal y que las cifras elevadas de linfocitos CD4+ en sangre periférica se relacionan negativamente con el riesgo de esta neoplasia, sería posible que en los próximos años veamos un impacto en la incidencia del carcinoma anal, con una estabilización en la misma como se ha detectado en algunos países⁽⁴³⁾⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾. Por otra parte, la mayor incidencia de nuevas infecciones por VIH en la población HSH, como ocurre en España y en los países de la Unión Europea⁽⁸⁶⁾, podría contrarrestar este efecto, ya que estos pacientes tienen 80 veces más riesgo de cáncer anal que la población general. Concretamente, en España el aumento en los nuevos diagnósticos de VIH en la población HSH se cifra en más de 14/100,000 personas. Por el contrario, la tasa de nuevos diagnósticos disminuye en HSM con incidencias con menos de 3/100,000 personas y en ADVP en descenso con menos de 1/100,000 personas⁽⁸⁷⁾. (**Tabla 1**).

Tabla 1. Tasa de nuevos diagnósticos de VIH anuales por categoría de transmisión. España, 2008-2013. Datos corregidos por retraso en la notificación



El carcinoma cervical infiltrante se incluye desde el año 1993 entre las condiciones definitorias de SIDA según la CDC, tras demostrarse que las mujeres infectadas por VIH tenían una mayor prevalencia de HSIL cervical, y a pesar de la escasa evidencia de una mayor incidencia de carcinoma cervical infiltrante en este grupo⁽⁸⁸⁾⁽⁸⁹⁾⁽⁹⁰⁾. Aunque la relación entre la inmunosupresión y el desarrollo de CIN y carcinoma infiltrante no se conoce lo suficiente, si se ha demostrado una correlación entre la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica y la infección por VPH⁽⁹¹⁾⁽⁹²⁾⁽⁹³⁾. Como ocurre en el carcinoma cervical, en pacientes infectados por VIH existe una mayor prevalencia de HSIL anal, que como se analizará posteriormente se ha asociado en algunos estudios a cifras inferiores de linfocitos CD4+ en sangre periférica⁽⁹⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁸³⁾. En este sentido, las similitudes etiopatogénicas y en la historia natural de ambas neoplasias plantearían la conveniencia de incluir el carcinoma anal infiltrante como enfermedad definitoria de SIDA⁽²⁾⁽⁷⁷⁾.

Puesto que en la actualidad no se incluye como tal, el carcinoma epidermoide anal constituye la neoplasia no definitoria de SIDA más frecuente, de forma que en los últimos años se ha convertido en uno de los mayores problemas de salud en la población infectada por el VIH⁽⁹⁴⁾⁽⁹⁵⁾.

c) **Actividad sexual de riesgo.**

Existen numerosos estudios que investigan la relación entre la conducta sexual y el cáncer anal. El aumento de incidencia del carcinoma anal en HSH constituye una evidencia sólida de la relación entre las relaciones anales y el desarrollo de carcinoma anal⁽¹¹⁾⁽⁴⁹⁾. En un estudio poblacional de casos y controles, se evidenció que los varones con cáncer anal presentaban con respecto a la población control mayores probabilidad de permanecer solteros (RR 8.6), tener antecedentes de relaciones homosexuales (RR 50), haber practicado sexo anal receptivo (RR 33) y haber presentado condilomas genitales (RR 27) o gonorrea (RR 17)⁽⁴⁹⁾. Posteriormente, en muchos otros trabajos, se ha consolidado la práctica de sexo

anal receptivo como la de mayor riesgo para la adquisición de carcinoma anal⁽²⁾⁽⁵⁾⁽¹¹⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁹⁶⁾. Un estudio de casos y controles confirmó estos hallazgos, demostrando que el riesgo de cáncer anal era mayor en hombres que no eran exclusivamente heterosexuales (OR=17.3; 95% CI 8.2-36.1). Entre ellos, la práctica de sexo ano-receptivo se asociaba de forma independiente a un mayor riesgo de cáncer anal (OR=6.8; 95% CI 1.4-33.8)⁽⁹⁷⁾. Un mayor número de parejas sexuales (>15) también se ha asociado con un riesgo aumentado de cáncer anal con (OR de 3.9 para varones heterosexuales y de 6.6 para varones HSH)⁽⁴⁾.

En varios análisis multivariantes, se repiten los mismos factores de riesgo de cáncer anal en HSH: 10 o más parejas sexuales a lo largo de la vida, historia de condilomas anales o genitales, sexo anal receptivo, frecuencia de las relaciones sexuales anales y antecedentes de otras ITS. La presencia de estos antecedentes también aumenta el riesgo de carcinoma anal en varones heterosexuales y en mujeres⁽²⁾⁽¹²⁾⁽⁹⁷⁾⁽⁹⁸⁾.

En las mujeres con cáncer anal el antecedente de relaciones sexuales ano-receptivas se registra en un 16% frente al 11% en la población general. De nuevo, un mayor número de parejas sexuales se asocia a mayor riesgo de cáncer anal⁽²⁾⁽⁹⁷⁾. Por último, el antecedente de ITS parece relacionarse con un mayor riesgo de cáncer anal. Sin embargo esto puede ser confuso debido a que la población heterosexual con historia de ITS también presenta mayor frecuencia de relaciones sexuales ano-receptivas⁽²⁾⁽⁹⁷⁾⁽⁹⁹⁾.

A pesar de lo expuesto merece la pena destacar una vez más que aunque el sexo ano-receptivo aumenta el riesgo de cáncer anal, hay un porcentaje importante de pacientes que presentan infección por VPH anal y displasia sin antecedente de relaciones ano-receptivas⁽¹⁰⁰⁾, por lo que la ausencia de este antecedente no nos debe hacer descartar la necesidad de cribado.

d) Hábito tabáquico y enolismo

Numerosos trabajos han demostrado que el consumo de tabaco es un factor de riesgo para el desarrollo del cáncer anal. Un estudio llevado a cabo en 1992 estimó un OR para el cáncer anal entre fumadores y no fumadores de 3.0 para las mujeres y 5 para los varones⁽¹⁰¹⁾. Más recientemente un estudio confirmó el riesgo de fumar para el desarrollo de cáncer anal en varones (OR:3.9) y mujeres (OR:3.8)⁽⁹⁷⁾. Además este riesgo aumenta de forma lineal un 6.7% por paquete-año⁽¹⁰²⁾. Por último, un estudio llevado a cabo en Holanda, encontró un HR de 1.60 para el cáncer anal en fumadores y ex fumadores. En cualquier caso el consumo de tabaco es mayor en pacientes infectados por VIH que en la población general, y los pacientes infectados por VIH pierden más años de vida por el tabaco que por la propia infección por el VIH⁽¹⁰³⁾. Este mismo estudio ha sido el único en encontrar una asociación entre el alcohol y el cáncer anal con un HR de 2.2 para HSH infectados por VIH que beben más de 28 vasos de alcohol a la semana⁽⁹³⁾. Es posible que este aumento venga dado por el hecho de que el consumo de alcohol, por su efecto desinhibidor, conlleve una mayor exposición a relaciones sexuales de riesgo.

1.5. Historia natural de la neoplasia intraepitelial anal

No se dispone todavía de estudios a largo plazo que establezcan de forma definitiva un modelo que explique todos los aspectos de la historia natural del carcinoma anal.

La neoplasia anal intraepitelial (AIN) fue caracterizada por primera vez en 1981 por Fenger y Nielsen⁽¹⁰⁴⁾. Éste es el punto de partida de un modelo evolutivo que, por analogía con el carcinoma de cérvix, incluye una gradación desde lesiones precursoras intraepiteliales hasta el desarrollo de tumores invasivos. Esta evolución ha sido confirmada en estudios recientes⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²³⁾.

Tanto el cérvix como el canal anal presentan una zona anatómica de transformación, regiones de metaplasia fisiológica en las que el epitelio glandular se sustituye por epitelio escamoso (del canal anal o ectocérvix, según el caso). Las células metaplásicas inmaduras son las que presentan mayor riesgo de infección por VPH-AR, posiblemente por la facilidad con la que el virus alcanza las capas basales del epitelio. Tras la infección, el VPH puede ocasionar bien infección productiva con diferenciación terminal y maduración de las células epiteliales (con su equivalente morfológico correspondiente: condiloma o displasia anal intraepitelial de bajo grado, AIN I), o bien interrumpir de forma anómala el ciclo de recambio celular, determinando la aparición de lesiones de comportamiento preneoplásico denominadas HSIL en las diversas localizaciones⁽¹⁰⁵⁾. **(Figura 1).**

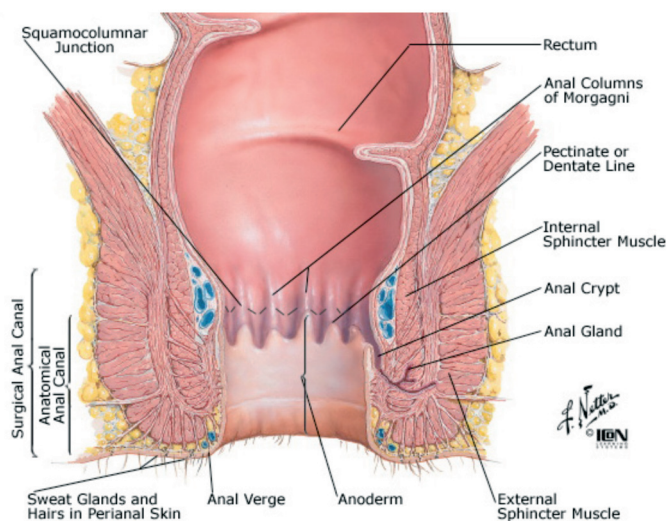


Figura 1. Esquema anatómico del canal anal.

Como se ha comentado previamente, la infección persistente por VPH-AR es el factor de riesgo principal para el desarrollo de HSIL, que sin tratamiento, es

precursora de la aparición de carcinoma epidermoide, tanto anal como vulvar, vaginal, cervical y peneano⁽¹⁵⁾⁽²³⁾⁽⁴⁸⁾⁽¹⁰⁶⁾.

Sin embargo el potencial de progresión del HSIL sólo se conoce bien en el caso del cérvix, como consecuencia de un estudio poco ético llevado a cabo entre 1955-1976 en Nueva Zelanda en mujeres con CIN 3 que no fueron tratadas. La incidencia acumulada de cáncer de cérvix o vagina en esta cohorte a los 30 años fue de 31.3% frente a 0.7% en las pacientes que fueron tratadas⁽¹⁰⁷⁾. Claramente un estudio así no se puede repetir en ano ni en ninguna otra localización por motivos éticos y por tanto la evidencia disponible sobre la progresión de HSIL anal a cáncer invasivo será siempre menor.

La prevalencia de SIL anal es alta en HSH no infectados por VIH y aún mayor en HSH infectados por VIH (55.1%). La prevalencia de HSIL anal es también elevada en estas poblaciones, con valores de 15.2% en pacientes no infectados por VIH y 23.9% en HSH infectados por VIH⁽⁹⁾. Dos estudios recientes encontraron valores más elevados con prevalencias del 30% en pacientes HSH infectados por VIH⁽⁴³⁾⁽¹⁰⁸⁾. Otros estudios presentan valores incluso mayores; Por ejemplo, en una serie llevada a cabo en San Francisco el 81% de 357 varones HSH infectados por VIH presentaban SIL (de los cuales 52% eran de alto grado o HSIL)⁽¹⁷⁾.

En cuanto a la incidencia y desarrollo en el tiempo de estas lesiones, en un estudio que evaluó a 158 varones infectados por VIH y 147 no infectados por VIH sin displasia al inicio del seguimiento, durante un plazo de 21 meses se observó que el 15% de los pacientes infectados por VIH y el 7% de los no infectados por VIH, desarrollaron HSIL anal. Los factores de riesgo para la progresión histológica fueron la infección persistente por VPH-16 y 18, así como la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica inferior a 500 cel/mcL⁽⁷⁹⁾. En un estudio español más reciente se diagnosticaron 68 HSIL incidentes en un seguimiento de 649 personas-año, resultando en una progresión de 10/100 personas-año. La incidencia

acumulada fue de 7.2% a los 12 meses y 16.2% a los 24 meses. Los factores de riesgo independientes para la progresión fueron: Citología anormal (LSIL, HR:2.5, ASCUS HR:2.7, HSIL HR:7.7), AAR anormal (HR:3.57); y la infección por VPH 16 o 18 (HR 1.63); Seguir tratamiento TARGA (HR 0.4) y tener pareja estable (HR 0.62) fueron factores protectores⁽¹⁰⁹⁾.

Hoy sabemos que, al igual que ocurre con las lesiones de CIN, las lesiones epiteliales anales asociadas a la infección por VPH conforman un escenario clínico dinámico en el que es posible la regresión espontánea, la persistencia sin cambios o la progresión a lesiones invasivas de carácter maligno⁽²¹⁾. Clásicamente se ha considerado que una vez que se desarrolla HSIL en el epitelio anal, la posibilidad de regresión espontánea es muy escasa, incluso en individuos no infectados por VIH⁽⁶⁵⁾. Sin embargo, un reciente estudio retrospectivo que analiza una muestra de 574 pacientes, de los cuales el 73% estaban infectados por VIH, demostró una tasas de regresión considerable, de hasta un 23%(la mayoría evolucionaron a LSIL), mayor a la encontrada en el HSIL vulvar⁽²¹⁾⁽¹¹⁰⁾⁽¹¹¹⁾. Si bien es cierto que en este estudio la progresión a AIN3 era mayor en pacientes infectados por el HIV (HR 2.8) frente a los pacientes no infectados (p:0.019), particularmente en aquellos con nadir de linfocitos CD4+ menor de 200 células/mcl (p:0.003).

La evolución de HSIL anal a carcinoma ha sido observada en varios estudios. En el primero, tres de 35 pacientes sin infección por VIH (26 mujeres y 9 hombres) diagnosticados de HSIL(AIN 3) desarrollaron carcinoma epidermoide invasivo tras 63 meses de seguimiento⁽¹¹²⁾. En otro estudio se analizó una cohorte de 72 pacientes no inmunocomprometidos (52 mujeres) con HSIL, seguidos durante 60 meses, en los que se observó en 8 una progresión a carcinoma infiltrante (11%)⁽²²⁾. Ninguno de los 17 pacientes diagnosticados de LSIL anal de este estudio progresaron a cáncer y 25 lograron una remisión completa o parcial tras tratamiento. En un estudio que incluyó exclusivamente pacientes infectados por VIH (n:40) con evidencia de HSIL, 3 (7.5%) desarrollaron un carcinoma infiltrante en un período de seguimiento de 16 meses⁽¹⁰⁶⁾.

Aunque se trata de estudios pequeños y no centrados en pacientes VIH+, se podría concluir que incluso con seguimiento y tratamiento un porcentaje de 9-13% casos de AIN 3 progresan a cáncer infiltrante a lo largo de 5-10 años, lo cual sería comparable a la evolución del CIN 3 en un período similar⁽¹⁰⁷⁾.

Frente a estas cifras, *Machalek et al.* presentan en su metanálisis una progresión teórica de HSIL anal a cáncer anal infiltrante de 1/377 por año en la era TARGA⁽⁹⁾.

Por otra parte, en un estudio de cohortes del 2014 en los que 368 HSH fueron seguidos y tratados en caso de HSIL se demostró que el riesgo acumulado de cáncer desde un primer diagnóstico de HSIL anal era del 3.2% a los 5 años. El ratio de incidencia de carcinoma anal desde el primer diagnóstico de HSIL en la primera anoscopia fue de 6.1/1000 personas-año, lo que corresponde a un paciente cada 164 al año en pacientes que recibieron tratamiento de las lesiones de HSIL⁽¹¹³⁾. Por último, *Cachay et al.* en un estudio de cohortes llevado a cabo entre 2000-2012 en California en 2804 pacientes infectados por VIH encuentran carcinoma anal en 23. Aquellos con un HSIL basal en la citología presentaron un riesgo de progresión a carcinoma infiltrante a los 5 años de 1.7% y un riesgo de progresión anual de 1/263⁽¹¹⁴⁾.

Estos datos son claramente inferiores a los observados en cérvix, en los que se estima una progresión de 1/80 al año desde CIN3 a carcinoma infiltrante⁽¹⁰⁷⁾. A nivel vulvar, una revisión sistemática encuentra una progresión de un 9% en HSIL vulvar no tratadas⁽¹¹⁰⁾. Una posible explicación para esta discrepancia sería que estas estimaciones están basadas en estudios transversales y prevalencias globales de HSIL(sin diferenciar SIL grado 2 y 3) y cáncer. Es decir, que aunque es probable que la regresión del HSIL anal sea mas frecuente que el HSIL cervical, al no distinguir en el metanálisis de Machalek entre AIN 2 y 3, la tasa de progresión estaría infraestimada y la comparación con la progresión del CIN 3 no sería equiparable.

Por todo esto, es imprescindible priorizar la atención a aquellos pacientes con HSIL anal con mayor riesgo de progresión. Varios estudios evidencian que el progreso de

la enfermedad es más rápido en los pacientes infectados por VIH, con una menor tasa de regresión espontánea y una mayor progresión en estadios más avanzados⁽²²⁾⁽⁷⁷⁾.

En contraste con lo que observamos en los pacientes infectados por el VIH, la incidencia de carcinoma anal en los pacientes HSH inmunocompetentes, aún siendo alta, resulta menor de lo esperable si tenemos en cuenta las altísimas cifras de prevalencia de HSIL descritas⁽¹¹⁵⁾. Este hecho probablemente se debe a que en los pacientes inmunocompetentes es mucho más frecuente la regresión espontánea de estas lesiones y esto debe de tenerse en cuenta a la hora de establecer protocolos de prevención del cáncer anal.

1.6. Cribado de la neoplasia intraepitelial anal mediante citología y anoscopia de alta resolución

1.6.1. Características del cribado mediante citología y anoscopia de alta resolución

Introducción histórica.

El estudio del ano con un colposcopio se describe por primera vez en 1977 por O'Connor⁽¹⁰⁴⁾. La AIN fue caracterizada por primera vez en 1981 por Fenger y Nielsen⁽¹⁰⁴⁾. Sin embargo, no es hasta el año 1997 cuando surge la primera propuesta de un protocolo sistematizado de cribado de carcinoma anal aplicable a las poblaciones de mayor riesgo por parte de *Palefsky y cols.*⁽⁶⁵⁾.

A pesar de que el cribado de las lesiones de HSIL anal es una práctica cada vez más extendida en países occidentales, no existen aún guías clínicas estandarizadas y no se han desarrollado ensayos clínicos randomizados que validen la eficacia del mismo como se analizará posteriormente.

Características del cribado de las lesiones de HSIL anal.

Puesto que el carcinoma epidermoide anal se desarrolla sobre lesiones precursoras que se pueden diagnosticar y tratar, se trata de un tumor prevenible, que presenta similitudes evidentes con el carcinoma de cérvix desde el punto de vista epidemiológico, factores de riesgo y características anatómicas e histológicas.

Cabe destacar que el cáncer anal y sus lesiones precursoras cursan habitualmente de manera asintomática, aunque en ocasiones pueden acompañarse de sangrado anal, dolor, sensación de ocupación o tenesmo. En especial el dolor anal es un síntoma a tener en cuenta para orientar la prioridad del cribado⁽¹¹⁶⁾.

En los últimos 10 años, se han iniciado programas de detección precoz del carcinoma anal que se basan en las aplicadas para el caso del carcinoma cervical, con el objetivo de que su aplicación redunde en una disminución de la incidencia del cáncer anal. Pero cabe destacar, que antes de considerar el cribado es fundamental iniciar la asistencia de los pacientes de riesgo con una correcta historia clínica y exploración física. La inspección visual, junto con el tacto rectal constituyen siempre el primer paso para el abordaje del paciente de riesgo.

La primera propuesta de un protocolo sistematizado de cribado del HSIL aplicable a la población de riesgo corresponde a Palefsky⁽⁶⁵⁾. Los protocolos de cribado del carcinoma epidermoide anal diferencian dos etapas: La primera es la toma de muestras para citología anal, que se realiza de forma preferente en medio líquido. En los casos en los que se encuentra cualquier alteración citológica, se procede a la realización de una anoscopia de alta resolución (AAR), que se considera la prueba oro para el diagnóstico del HSIL, con toma de biopsias de las zonas sugestivas de displasia.

Citología anal.

Se trata de una técnica sencilla y cómoda de realizar que permite la obtención de células para el análisis citopatológico, siendo posible además la determinación cualitativa del VPH cuando se realiza en medio líquido.

Se lleva a cabo mediante la introducción en el canal anal, aproximadamente hasta 3 cm de profundidad, de un cepillo de citología (por ejemplo Cytobrush®), que se extraerá siguiendo un movimiento circular con el objeto de favorecer el contacto con las paredes del canal anal. Posteriormente el cepillo se sumerge en un vial con líquido conservador (por ejemplo PreservCyt®) que permite la obtención de células para el análisis citopatológico. Una parte de la muestra se procesará para detección del VPH por la técnica de captura de híbridos.

Actualmente las técnicas citológicas han mejorado de forma significativa y han demostrado tener una sensibilidad y especificidad comparables al menos a la citología cervical. Se trata por tanto de una prueba sencilla e incruenta, que cuando se realiza en medio líquido presenta sensibilidades (69-93%) y especificidades (32-59%) aceptables⁽¹¹⁷⁾⁽¹¹⁸⁾⁽¹¹⁹⁾. Sin embargo, y al igual que ocurre en cérvix, la citología no predice de forma adecuada el grado de afectación histológica. Sabemos que un resultado de displasia de alto grado en la citología tiene un alto valor predictivo positivo para displasia de alto grado histológico. Las alteraciones epiteliales de bajo grado obtenidas mediante citología, no son fiables para determinar el verdadero grado de la lesión ya que un resultado citológico de ASCUS o de LSIL puede aparecer en el contexto de una displasia de alto grado histológico⁽²⁷⁾⁽¹²⁰⁾. Por tanto, cualquier alteración citológica se seguirá de AAR con biopsias de las zonas de sugestivas de displasia para confirmar el diagnóstico y determinar el grado de la misma.

Anoscopia de alta resolución (AAR).

Esta técnica se considera la técnica de elección para el diagnóstico dirigido de las lesiones de HSIL. La AAR es un procedimiento similar a la colposcopia cervical, y que utiliza un equipo idéntico (una fuente binocular de alta resolución asociada a una fuente de luz potente) para estudiar el epitelio de transición anal. Se utiliza para

esta exploración una gasa empapada en una solución de ácido acético al 3%-5% que ha de permanecer en contacto con la mucosa durante unos minutos. Las lesiones de HSIL suelen adquirir al contacto con la solución una coloración blanquecina que permite seleccionar las zonas de sospecha de para realizar una biopsia. También puede aplicarse posteriormente una tinción con lugol. Debemos sospechar un HSIL ante la presencia de placas acetoblancas, placas que no captan lugol y aquellas zonas de la mucosa que presenten un patrón vascular anómalo⁽¹²¹⁾. El estudio histológico mediante biopsia en sacabocados de las lesiones constituye la prueba de elección para el diagnóstico y la evaluación de la gravedad del HSIL⁽²⁾.

Desde el punto de vista citológico la displasia anal puede definirse de forma similar a las lesiones del cérvix uterino y, por lo tanto, puede utilizarse la clasificación de Bethesda⁽¹²²⁾, que diferencia varias categorías: normal, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL), células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) y células escamosas atípicas-no se excluye HSIL (ASC-H). Esta diferenciación citológica entre lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado y de alto grado tiene una correspondencia histológica cuando se analiza la biopsia efectuada en el canal anal. La biopsia se basa en la detección de la displasia y en la determinación de su profundidad en el epitelio estudiado. Así pues, teniendo en cuenta la división del epitelio en 3 partes, la AIN se divide en grado 1, grado 2 y grado 3 en función de la aparición de células displásicas que afecten al epitelio de menor a mayor profundidad, respectivamente. Desde el año 2012, tras la publicación de las recomendaciones de consenso del colegio americano de patólogos y la sociedad americana de colposcopia cervical, se está realizando un esfuerzo por estandarizar la nomenclatura de las lesiones displásicas del área anogenital desde el punto de vista histológico⁽¹⁵⁾. De este modo, tanto en varones como en mujeres se diferencian dos tipos de lesiones desde un punto de vista histológico:

- LSIL(lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado): Se corresponde con la AIN 1, PAIN 1, VIN 1, VAIN 1, CIN 1, PIN 1 en función de la localización anal, perianal, vulvar, vaginal, cervical o peneana).
- HSIL(lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado), que a su vez puede dividirse en grado –IN 2 o 3 según la localización. Por ejemplo, si el patólogo quiere informar una biopsia de neoplasia intraepitelial anal grado 2 lo hará del siguiente modo: HSIL (AIN 2).

En cuanto a la interpretación de su significado biológico, generalmente se considera que AIN1/LSIL se refieren a las lesiones con comportamiento evolutivo benigno, es decir con tendencia a la regresión espontánea y escaso potencial maligno. En la otra parte del espectro de las lesiones claramente precursoras de carcinoma anal se localizan los casos de HSIL (en especial AIN 3). La naturaleza equivoca de las lesiones –IN2(en cualquier localización ano-genital), constituye una categoría intermedia sin un correlato biológico bien definido. Se cree que representa una mezcla de lesiones de alto y bajo grado que no puede diferenciarse de forma clara y objetiva con hematoxilina-eosina, presentando además escasa reproducibilidad entre patólogos y con una alta variabilidad interobservador⁽¹⁵⁾. Como es de esperar en este “cajón de sastre” el riesgo de progresión de esta categoría es intermedio entre lesiones –IN1 y 3⁽¹⁵⁾.

Diagnóstico de infección por el VPH.

El papel del VPH en el cribado cervical frente a la citología ha ganado peso en los últimos años, fundamentalmente en mujeres mayores de 30 años, ya que en las pacientes más jóvenes la prevalencia de VPH es muy alta(80%) y no es eficaz como cribado de primera línea⁽¹²³⁾.

Sin embargo, existen controversias sobre el valor del diagnóstico del VPH en el cribado del HSIL anal. Esto se debe a la altísima prevalencia de la infección por VPH en los grupos de mayor riesgo como son los pacientes HSH infectados por VIH. Es bien conocido que la mayoría de los HSH infectados por el VIH presentan múltiples variantes del VPH, habiendo poca diferencia en las tasas de infección entre pacientes con y sin HSIL⁽⁹⁾⁽¹²⁴⁾.

En HSH infectados por VIH con diagnóstico de ASCUS, es controvertido si la detección del VPH sería útil porque la mayoría de los pacientes estarán infectados por VPH oncogénico y esta prueba por tanto no mejorará la especificidad del cribado⁽¹²⁰⁾⁽¹²⁵⁾. Algunos autores han propuesto complementar el cribado del HSIL mediante la detección del VPH en pacientes con citología normal y en HSH no infectados por VIH en los que la sensibilidad del cribado es menor⁽¹¹⁹⁾⁽¹²⁶⁾. El papel de la detección del VPH en otros grupos de riesgo, como en mujeres con antecedente de displasia cervical, podría tener más valor por ser menor la prevalencia de infección anal por VPH.

Por otra parte, la detección del VPH como técnica de rutina en el cribado del HSIL puede tener valor si nos basamos en su valor predictivo negativo, ya que sabemos que en el paciente en el que no se detecta VPH-AR no encontraremos displasia y por ello en estos pacientes podremos evitar la AAR⁽¹²⁰⁾⁽¹²⁷⁾. Desgraciadamente esto ocurre en un porcentaje bajo de los pacientes de riesgo.

Pacientes de riesgo a los que recomendar el cribado.

Se ha comentado previamente cuales son los fundamentales grupos de riesgo para el desarrollo de neoplasias epiteliales relacionadas con la infección por el VIH. La decisión de cuáles deben someterse al cribado resulta compleja, y lleva implícita la necesidad de que esta intervención sea coste-efectiva. En la **Figura 2** se recogen los pacientes a los que podría recomendarse realizar el cribado por presentar factores de

riesgo. Sin embargo sólo existen estudios que demuestren que esta intervención es coste-efectiva en pacientes infectados por VIH una vez al año y HSH sin infección por VIH cada dos o tres años⁽¹²⁸⁾⁽¹²⁹⁾.

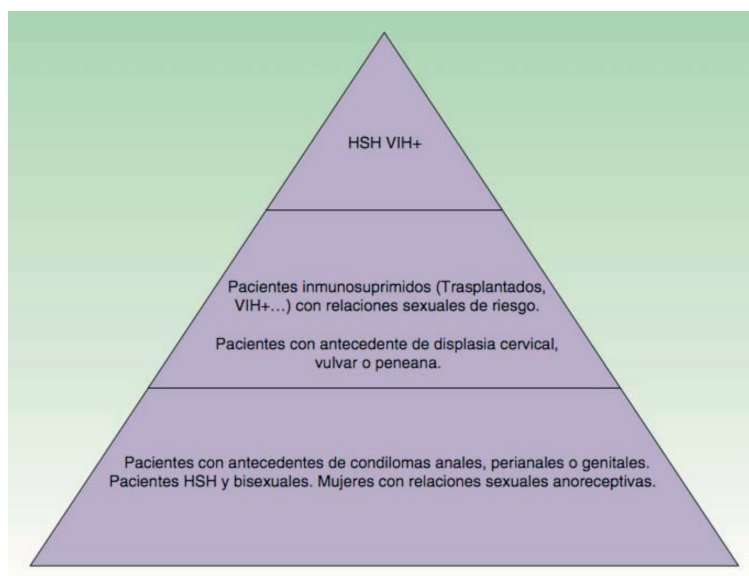


Figura 2. Población de riesgo a la que recomendar el cribado de HSIL.

Esquema del cribado.

No existe un esquema universal de cribado y la mayoría de los autores se basan en el inicial propuesto por Palefsky⁽¹¹⁸⁾ (**Figura 3**). A todos los pacientes se les realiza una citología anal mediante la técnica previamente comentada. Si es negativa, y el paciente está infectado por el VIH se repetirá la citología en un año. Si el paciente no está infectado por VIH, entonces la citología se repetirá en 2-3 años. Cualquier alteración en la citología será indicación de exploración mediante AAR y biopsia. Si se detecta en la biopsia un LSIL/AIN 1, está indicada una nueva AAR en 6 meses. Si se encuentra un HSIL estará indicado tratar. Si tras una alteración de bajo grado en la citología no se observan hallazgos en la AAR habrá que repetir la

citología en 6 meses. En la situación excepcional en que no encontremos hallazgos patológicos en la AAR tras una citología de alto grado, tomaremos biopsias ciegas y repetiremos la citología en un plazo breve.

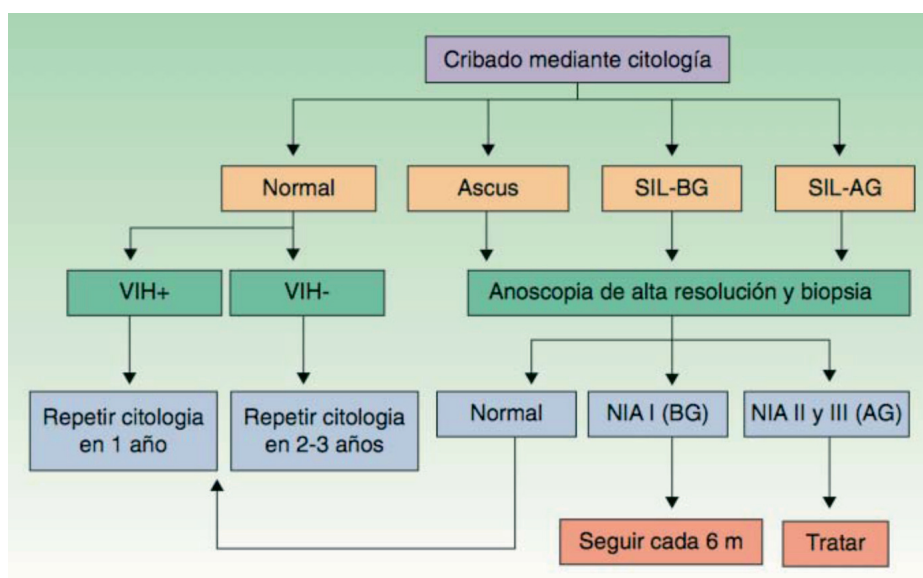


Figura 3. Algoritmo del cribado del HSIL adaptado con permiso del Dr JM. Palefsky⁽⁴⁷⁾.

Recomendaciones actuales en guías y sociedades científicas.

La recomendación para el cribado de la displasia anal varía de forma considerable entre las diferentes comunidades científicas mostrando a menudo poca precisión⁽¹³⁰⁾⁽¹³¹⁾⁽¹³²⁾. En algunas guías oficiales de seguimiento del paciente VIH (*NY State Department of Health AIDS Institute*) ya se recomienda realizar este cribado de manera sistemática a los pacientes infectados por el VIH⁽¹³³⁾. Las guías de la CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) no se pronuncian al respecto, y se limitan a indicar que la citología es utilizada por muchos expertos para el cribado del HSIL en pacientes infectados por VIH⁽¹³⁴⁾.

Otras sociedades, como la Sociedad Europea, recomienda el cribado en HSH cada 1-3 años mediante tacto rectal y/o citología sin especificar con más detalle⁽¹³⁵⁾. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas recomienda inspección visual junto con tacto rectal en todos los pacientes. En HSH infectados por VIH, con antecedente de condilomas, debe considerarse la citología y AAR en caso de alteración citológica.

Finalmente, el Grupo Español para el estudio del SIDA (GESIDA) recomienda en centros no especializados inspección visual y tacto rectal. En centros especializados, citología anual para HSH y mujeres con HSIL cervical o carcinoma cervical. En caso de citología alterada recomiendan AAR⁽¹³⁶⁾.

1.6.2. Introducción del primer trabajo original: “*Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men*”

Los trabajos que estudian la prevalencia en España de la infección anal por el VPH y displasia son muy escasos⁽¹²⁴⁾⁽¹³⁷⁾⁽¹³⁸⁾. En el año 2009 se inicia en el Hospital Universitario La Paz un protocolo para la detección del HSIL anal mediante citología y AAR. Dicho protocolo se desarrolla de forma fundamental en pacientes infectados por VIH, aunque también se incluyen pacientes inmunodeprimidos por otras causas.

Los resultados de la aplicación de este protocolo entre el año 2009 y 2012 en la cohorte de pacientes infectados por el VIH se publican en el primer trabajo original presentado en esta tesis doctoral.

1.7. Mejorando el cribado del HSIL anal

1.7.1. Limitaciones en el cribado de la neoplasia intraepitelial anal

Se ha comentado previamente que la sensibilidad y especificidad de la citología es similar a la cervical, habiéndose documentado que es mayor en pacientes con afectación extensa (en más de un cuadrante de la mucosa anal) y en los pacientes infectados por VIH, sobre todo si presentan cifras bajas de linfocitos CD4+ en sangre periférica⁽²⁷⁾.

Sin embargo, como ocurre en el cérvix, se trata de un cribado de características sub-óptimas, ya que existen pacientes con HSIL que no son detectados mediante citología, y por otra parte muchos pacientes sanos son sometidos a AAR de forma innecesaria. Además, la escasa correlación entre los hallazgos citológicos e histológicos hace aún más controvertido el uso de la citología como cribado, hasta el punto de que hay autores que han propuesto obviar la citología e indicar la AAR como test de cribado desde el principio⁽¹²⁰⁾. Aunque la histología guiada por AAR es el patrón “oro” para el diagnóstico de HSIL, también a nivel histológico se ha objetivado que la concordancia intra e interobservador es tan solo moderada⁽¹³⁹⁾.

Por este motivo, se están investigando técnicas moleculares que intentan mejorar la sensibilidad y especificidad del cribado, habiéndose propuesto marcadores moleculares citológicos, histológicos y microbiológicos para intentar mejorar las características del mismo. Entre ellos cabe destacar el papel de proteínas marcadoras de disregulación del ciclo celular y biomarcadores de daño del ADN como la gammatubulina, las betadefensinas, el uso de las proteínas de mantenimiento de mini-cromosomas, el RNAm, la carga de VPH y su integración, y las proteínas Ki-67 y p16⁽¹⁴⁰⁾⁽¹⁴¹⁾.

1.7.2. Introducción al segundo trabajo original “*Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men*”

La mayoría de las infecciones por VPH son transitorias tanto en ano como en cérvix, aclarándose o haciéndose indetectables después de un período de tiempo relativamente corto. Sólo en un pequeño porcentaje la infección se cronifica y puede producirse la integración del genoma del VPH en el del huésped, pudiendo así evolucionar desde una infección transitoria a una infección transformante. La integración del virus al genoma del huésped, se ha relacionado no sólo con la aparición de displasia sino también con la progresión de lesiones preinvasivas y el mantenimiento del fenotipo transformado. La integración, especialmente del genotipo VPH tipo 16 se da en secuencias específicas del genoma viral, principalmente en su región E1/E2. Cuando se interrumpe esta secuencia se pierde el efecto inhibitorio sobre las oncoproteínas E6 y E7 que quedan sobre-expresadas. Estas proteínas tienen la función de inactivar genes supresores de tumores, como p53 y pRb, responsables del control en importantes puntos de “chequeo” del ciclo celular. Por todo ello el proceso de integración viral, es considerado como una alteración genética importante que caracteriza las lesiones de HSIL, con potenciales aplicaciones como marcador de progresión de lesiones precursoras y herramienta de diagnóstico⁽¹⁴⁾⁽¹⁴²⁾. **(Figura 4)**.

Existe abundante evidencia en la literatura que demuestra que las proteínas E6 y E7 juegan un rol fundamental en la transformación maligna y que están sobre-expresadas en las lesiones de HSIL.

Dadas las limitaciones previamente comentadas de la citología anal, y dado que el ADN del VPH tiene poco valor en el cribado anal dada su altísima prevalencia en pacientes de riesgo se postula que la detección de la transcripción del RNAm de E6/E7 de los genotipos de riesgo del VPH podría ser un marcador subrogado

de HSIL e incluso predecir que pacientes tienen un mayor riesgo de evolución a neoplasia infiltrante.

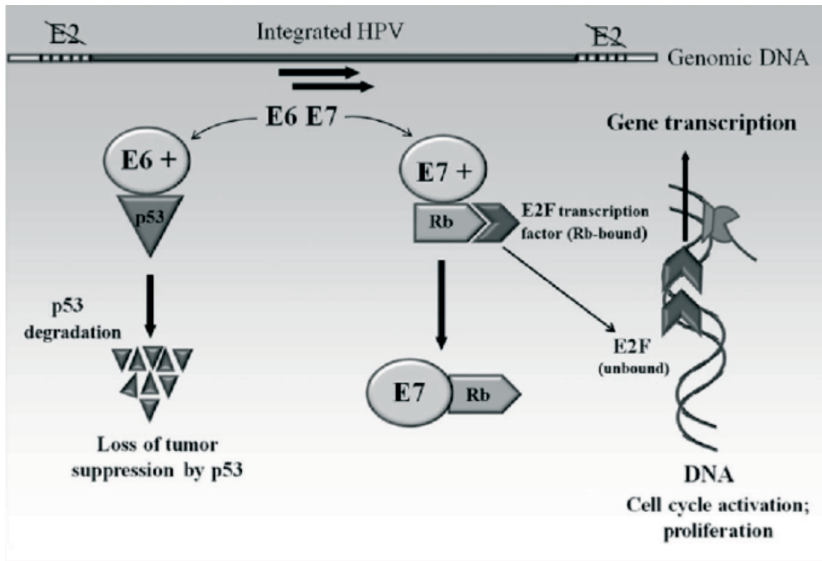


Figura 4. Esquema de la integración viral y su repercusión en la sobreexpresión de E6/E7(143)

Por este motivo llevamos a cabo este estudio en el que evaluamos las características como test del RNA m de HPV E6/E7 por medio del reactivo NucliSENS EasyQ HPV en pacientes HSH infectados por VIH, comparado con el DNA VPH-AR, y la citología anal.

1.8. Tratamiento de la neoplasia intraepitelial anal

1.8.1. Panorama actual en el tratamiento tópico de la neoplasia intraepitelial anal

El tratamiento del HSIL anal supone un reto terapéutico por varios motivos. En primer lugar por el riesgo de recurrencias y de lesiones metacrónicas, que se asocia a

cualquiera de los tratamientos que se describen a continuación. Desafortunadamente, el tratamiento del HSIL no se acompaña de la erradicación de la infección viral, por lo que la persistencia del VPH-AR obliga a una monitorización prolongada del paciente tras el mismo. En segundo lugar por tratarse de una enfermedad multifocal por definición, por el alto riesgo de reinfección y la escasa adherencia a los tratamientos.

No existe un tratamiento de elección para el HSIL anal sino que hay que seleccionar el mismo en función de la localización y extensión de la enfermedad, así como de la disponibilidad y experiencia con los distintos tratamientos en cada centro⁽¹⁴⁴⁾.

No se considera necesario tratar el LSIL salvo que el paciente presente síntomas o gran ansiedad al respecto. Sin embargo, se recomienda tratar el HSIL, con el fin de evitar la progresión a un carcinoma invasor, salvo en el caso de que la afectación sea tan extensa que su tratamiento pueda derivar en complicaciones mayores que la propia enfermedad. En estos casos el seguimiento con AAR y examen digital cada tres-seis meses permitirá asegurar el diagnóstico precoz de un posible carcinoma invasor.

El tratamiento del HSIL puede abordarse mediante tratamientos tópicos, tratamientos ablativos o procedimientos quirúrgicos. Los distintos tratamientos que se han utilizado se resumen en la siguiente tabla (**Tabla 2**).

Tabla 2. Esquema de los tratamientos utilizados para el HSIL anal	
Tratamientos tópicos	Tratamientos ablativos
Tricloroacético 85%	Coagulación infrarroja
Nitrógeno líquido	Electrocoagulación
Imiquimod 5% crema	Láser CO ₂
5-Fluorouracilo crema	Cirugía

Cuando el HSIL se presenta de forma localizada el tratamiento es relativamente sencillo y las posibilidades terapéuticas múltiples, incluyendo la crioterapia, el ácido tricloroacético, el tratamiento mediante el coagulador infrarrojo, electrobisturí, láser CO₂, cirugía...etc.^{(57)(144) (145)}.

Especialmente eficaz es el coagulador infrarrojo en el tratamiento de la HSIL⁽⁵⁷⁾⁽¹⁴⁶⁾⁽¹⁴⁷⁾. Se trata de un dispositivo que actúa mediante coagulación térmica y tiene la ventaja de que permite tratar zonas extensas en consulta (con/sin anestesia según la zona a tratar), y que a diferencia del láser CO₂ no precisa extractor porque no se produce humo. Varios estudios retrospectivos indican que se trata de un procedimiento seguro que presenta una eficacia en el tratamiento de una lesión concreta de HSIL del 60-70%⁽¹⁴⁸⁾. La eficacia es mayor cuando se realizan varias sesiones y en pacientes no infectados por VIH⁽⁵⁷⁾⁽¹⁴⁶⁾. Uno de los estudios más importantes acerca del uso del coagulador infrarrojo es el de *Goldstone et al.* con 96 pacientes HSH tratados⁽¹⁴⁸⁾. La probabilidad de curar una lesión individual de HSIL tras la primera ablación en pacientes no infectados e infectados por VIH era de 80% y 67%. En este estudio se demostró la alta tasa de recurrencia en pacientes HSH infectados por VIH, ya que 40 (91%) presentaron una recurrencia a los 17 meses de media. Las recurrencias fueron menores tras sucesivas ablaciones de forma que tras la segunda, tercera y cuarta las recurrencias aparecieron en el 63%, 85%, y 47% de los casos. Los pacientes infectados por VIH tenían 1.9 veces más riesgo de recurrencia que los que no lo estaban (P:0.009). Un año después del tratamiento el 61% de los pacientes infectados por VIH tenían una recurrencia de su HSIL frente al 38% de los HSH no infectados por VIH. Cabe destacar que la mayoría de las recurrencias fueron debidas al desarrollo de lesiones metacrónicas que aparecieron en el 82% de los pacientes infectados por el VIH y en el 52% de los pacientes no infectados por el VIH.

Más complejo resulta el abordaje de las formas extensas en las que el tratamiento ablativo debe evitarse pues podría conducir a secuelas como estenosis anal.

En estos casos puede ofrecerse un tratamiento tópico auto aplicado, bien con intención curativa, o bien con intención de reducir la extensión de la enfermedad hasta que sea tratable mediante métodos ablativos como puede ser el coagulador infrarrojo. Entre los tratamientos tópicos auto-aplicados utilizados, destaca el papel del Imiquimod tópico y el 5-Fluorouracilo (5-FU), con tasas de remisión histológica del HSIL tras el tratamiento del 74% y 57% respectivamente⁽¹⁴⁵⁾⁽¹⁴⁹⁾⁽¹⁵⁰⁾⁽¹⁵¹⁾⁽¹⁵²⁾. En ambos casos el tratamiento se acompañó de una reducción de la carga viral del VPH-AR. Ambos tratamientos se asociaron a altas tasas de recurrencia que fueron del 58% (a los 30 meses del final del tratamiento) en el caso del imiquimod y del 50% en el caso del 5-FU (a los seis meses del final del tratamiento) Sin embargo, la mayoría de las recurrencias se presentaron en zonas diferentes a las del HSIL inicial y se asociaron a detección por VPH-AR de diferentes genotipos a los de la exploración inicial, es decir fueron consecuencia de re-infecciones por el VPH.

Entre los estudios publicados con imiquimod, cabe destacar un estudio randomizado doble ciego en el que se ofrecía un segundo ciclo de 4 meses de tratamiento a los pacientes no respondedores, y que demostró una remisión total de la HSIL mantenida durante al menos 36 meses en el 61% de los pacientes⁽¹⁵¹⁾. Otro estudio más reciente describe en la misma línea, los resultados del tratamiento de 44 pacientes con HSIL anal o perianal con imiquimod 5% a diario 5 días. Si no se observaba respuesta a las 16 semanas se pautaba de nuevo otras 16 semanas. Se observó una remisión completa o parcial en el 45% de los pacientes con HSIL a las 16 semanas y otros 9 pacientes respondieron tras el segundo ciclo de tratamiento lo que supuso una respuesta total de 29 (66%) de 44 pacientes⁽¹⁵³⁾.

Por último cabe destacar el posible papel de la vacunación por VPH como co-adyuvante al tratamiento del HSIL. Un estudio de cohortes reciente sugiere que la vacunación de pacientes HSH con lesiones de HSIL tratadas se asocia a una reducción del riesgo de HSIL del 50%⁽¹⁵⁴⁾. Esta disminución del riesgo parece durar

al menos 2 años, aunque el efecto es mayor durante el primer año. Aunque este hallazgo debe interpretarse con precaución, ya que no existen ensayos clínicos randomizados controlados que lo demuestren, el estudio es el primero desarrollado en población HSH en el que se usa la vacuna como prevención secundaria en HSH. Posteriormente *Coskuner et al.* mediante un modelo de Markov concluyeron que la vacunación tras el tratamiento de HSIL disminuiría el riesgo de cáncer anal en un 63% comparado con la no vacunación, y sería una estrategia coste-efectiva⁽¹⁵⁵⁾.

1.8.2. El cidofovir como alternativa terapéutica:

a) Descripción del fármaco:

El cidofovir (HPMPC) es un nucleótido análogo del monofosfato de deoxicitidina que presenta un amplio espectro contra diversos virus ADN, incluyendo adenovirus, poxvirus, herpesvirus y papilomavirus⁽¹⁵⁶⁾. En 1996 se aprobó con la indicación de retinitis por citomegalovirus en pacientes infectados por VIH, resistentes a ganciclovir y foscarnet.

Hoy en día ésta sigue siendo la única indicación aprobada para el uso del cidofovir. Para el tratamiento de la retinitis por citomegalovirus el cidofovir se administra iv a dosis de 5 mg/kg. Si bien el uso por vía tópica de cidofovir no ha sido aprobado, su eficacia en el tratamiento de infecciones laríngeas y anogenitales por VPH ha sido confirmado mediante algunos estudios randomizados controlados por placebo y multitud de series clínicas⁽¹⁵⁷⁾⁽¹⁵⁸⁾⁽¹⁵⁹⁾⁽¹⁶⁰⁾⁽¹⁶¹⁾. **(Figura 5).**

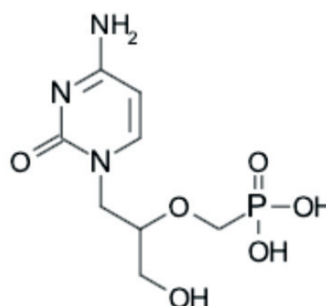


Figura 5. Estructura química del cidofovir.

b) Mecanismo de acción:

Estudios *in vitro* evaluando la posible eficacia y mecanismo de acción en cáncer asociado al VPH:

El mecanismo por el cual el cidofovir induce la regresión de las células infectadas por el VPH sigue siendo activamente estudiado, y es aparentemente diferente al del fármaco en el caso del CMV, porque el VPH utiliza la DNA polimerasa del huésped, y no una polimerasa codificada por el virus, para replicar su genoma⁽¹⁶²⁾⁽¹⁶³⁾.

Existen dudas sobre si la acción del cidofovir contra el VPH está más basada en sus propiedades antivirales o antitumorales. Sin embargo la estrecha relación entre el VPH y los diferentes mecanismos responsables de la replicación celular sugieren que la actividad del fármaco se relaciona con la interferencia del control viral en la replicación celular⁽¹⁵⁶⁾.

Los datos de los que disponemos indican que solo las células infectadas por el VPH acumulan cidofovir difosforilado, mientras que en las células no infectadas no se encuentra en esta forma. Esto podría explicar el efecto selectivo del cidofovir en las células infectadas, con acumulación de células que quedan “atrapadas” en fase S tardía, lo que traduce una obstaculización en la síntesis de ADN en las células afectas. Así, mientras que los queratinocitos no infectados por el VPH no presentan disminución en su crecimiento al ser tratadas con cidofovir, los que están infectados presentan una disminución marcada en su crecimiento. Este efecto inhibitor del crecimiento del cidofovir en las células infectadas por el VPH se ha demostrado en líneas celulares malignas, tanto *in vitro* como *in vivo* como se detalla a continuación.

Mediante estudio de líneas celulares infectadas por VPH se ha documentado que el cidofovir causa una inhibición de la proliferación celular que depende

del tiempo y la concentración del fármaco. A través del estudio de diversos indicadores de apoptosis *Andrei et al.* concluyeron que el mecanismo de muerte celular tras el tratamiento con cidofovir está basado en la inducción de la apoptosis⁽¹⁶²⁾. Adicionalmente el cidofovir induce una acumulación tiempo y dosis dependiente de células en la fase S del ciclo, aumento de los niveles de la proteína p53 y del inhibidor de la kinasa independiente de ciclina p21/WAF-1. Las células infectadas por el VPH tienen niveles bajos de p53 y p21 como consecuencia de la inactivación y degradación de p53 mediada por la oncoproteína E6 del VPH. Por su parte la proteína E7 interfiere con la función de pRb y puede prevenir la inhibición por parte de p21 de la ciclina CDK2/ciclina.

Se ha demostrado además que el cidofovir disminuye la expresión de E6 y E7 en células Me180 de carcinoma cérvix y en células HEP 2 de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello a nivel transcripcional, con aumento de los niveles de p53 y pRb en estas líneas celulares, y aumento de la sensibilidad a la radiación de las células infectadas por el HPV.

Por tanto, el cidofovir disminuye la expresión de E6 y E7, lo que conduce a una mayor expresión de reguladores claves en el control del ciclo celular como son p53 y pRb. La mayor expresión de p53 permite a la célula recuperar el control sobre el ciclo celular e induce la apoptosis de las células displásicas. Por otra parte diversos estudios han documentado el efecto antiangiogénico del cidofovir que podría ser un mecanismo adicional por el cual el fármaco sería eficaz como agente antitumoral⁽¹⁶³⁾⁽¹⁶⁴⁾.

c) Farmacocinética del cidofovir tópico:

Las propiedades farmacocinéticas del cidofovir en humanos solo han sido descritas tras la administración intravenosa del fármaco. El cidofovir presenta parámetros farmacocinéticos independientes de la dosis (por ejemplo, el volumen

de distribución, C_{max}) cuando se administra por vía sistémica. Después de una sola dosis, aproximadamente el 90% del cidofovir se recupera en la orina en las siguientes 24 horas. Puesto que el probenecid reduce el aclaramiento renal de cidofovir al valor del aclaramiento de creatinina, se ha sugerido que la eliminación de cidofovir de la circulación sistémica ocurre mediante secreción tubular activa además de la filtración. Los efectos secundarios sistémicos tras la administración intravenosa del fármaco son bien conocidos e incluyen la posibilidad de nefrotoxicidad, neutropenia y acidosis metabólica⁽¹⁵⁶⁾.

No existen datos acerca de la absorción del cidofovir tras la aplicación tópica en humanos. Sin embargo sí existen estudios en animales.

Especialmente interesantes son los estudios en conejos, un tipo de piel que constituye un modelo razonable para comparar con la piel humana. *Cundy et al.* investigaron la biodisponibilidad y el metabolismo del cidofovir tópico en varios vehículos sobre piel de conejos normal y erosionada⁽¹⁶⁵⁾. La biodisponibilidad del cidofovir radiomarcado sobre piel normal e intacta fue del 0.2 al 2.1% y se incrementaba al emplear vehículos conteniendo propilenglicol. Se observó que la acumulación renal era de menos de un 4% de la que acontece tras la administración iv. La recuperación en orina siguiendo la administración tópica de cidofovir 1% en gel con propilenglicol fue de 3,5% comparado con el 87.5% en su uso i.v. Por otra parte el cidofovir ni siquiera pudo ser detectado en plasma tras su uso en gel al 1% en un modelo de herpes genital en guinea-pigs⁽¹⁶⁶⁾. Puesto que la aplicación tópica de cidofovir sobre la piel intacta de estos animales dio lugar a una absorción sistémica insignificante, cabría esperar que en piel humana no erosionada el cidofovir tópico tenga el mismo comportamiento. Cabe destacar sin embargo que en el estudio de Cundy la biodisponibilidad del cidofovir en piel erosionada fue del 41% en vehículos conteniendo propilenglicol⁽¹⁶⁵⁾.

d) Efectos adversos del cidofovir tópico:

El uso de cidofovir tópico no debería asociarse a toxicidad sistémica puesto que la dosis total aplicada en la piel será siempre mucho menor a la aplicada de forma i.v. y también inferior a la aplicada de forma s.c. Dada la absorción transcutánea mínima del cidofovir, incluso utilizando las formulaciones basadas en propilenglicol, es excepcional la toxicidad sistémica.

Por este motivo, en los estudios que describen el uso de cidofovir tópico, el único efecto adverso documentado es la reacción inflamatoria local que puede ocasionar ulceración cutánea. Como única excepción, se ha descrito el caso de un paciente trasplantado medular con insuficiencia renal crónica que recibió tratamiento tópico para condilomas genitales en piel erosionada, y desarrolló una insuficiencia renal aguda reversible tras la suspensión del tratamiento⁽¹⁶⁷⁾. Cabe destacar que se trataba de un enfermo con insuficiencia renal crónica, que se utilizó propilenglicol como excipiente y se aplicó en piel erosionada. Respecto a la aplicación en mucosas, la aplicación de cidofovir tópico en mucosa cervical en mujeres en el estudio de Van Patcherbeke, se acompañó de efectos adversos locales moderados o leves y no se observó afectación sistémica, ni alteraciones en los niveles de creatinina o en el recuento de neutrófilos en ningún paciente⁽¹⁵⁹⁾.

Respecto al uso intralesional sólo se ha documentado un caso de reacción adversa sistémica. *Snoeck et al.* comunicaron un paciente, de un grupo de 11 tratados por papilomatosis laríngea recurrente severa con cidofovir intralesional en solución de 2.5 mg/ml, que abandonó el protocolo por sufrir molestias precordiales tras el tratamiento⁽¹⁶⁸⁾. Sin embargo, no se documentaron anomalías cardíacas.

Otros efectos adversos potenciales asociados a cidofovir en cualquiera de sus formas de administración:

Cidofovir y carcinogénesis: Existen reservas acerca del potencial carcinogénico del cidofovir. Los experimentos en animales no demostraron desarrollo de neoplasias en perros ni en monos. En un estudio en ratas se administró semanalmente 0, 6, 3, o 15 mg/kg de cidofovir semanalmente. Se observó un aumento en la incidencia de adenocarcinomas mamarios y carcinoma de las glándulas de Zimbal sólo en el grupo el que se administraron las dosis más altas de cidofovir (15 mg/kg). Sin embargo cabe destacar que el desarrollo de adenocarcinoma de mama en ratas es un hallazgo muy frecuente en los estudios farmacológicos con este animal⁽¹⁵⁶⁾.

Se han dado algunos casos de displasia en pacientes con papilomatosis laríngea durante el tratamiento con cidofovir. Broekema llevó a cabo una revisión al respecto, describiendo los resultados del cidofovir intralesional en 31 artículos acerca de 188 pacientes con papilomatosis laríngea tratados con cidofovir intralesional⁽¹⁶⁹⁾. 5 pacientes de 188 (2,7%) desarrollaron displasia. Este porcentaje coincide con el 3% de degeneración maligna espontánea de la papilomatosis laríngea. Por ello, los autores concluyen que el cidofovir no es el causante de la displasia en estos pacientes sino que son casos de degeneración maligna espontánea.

e) Estudios previos con cidofovir tópico e intralesional:

Indicaciones otorrinolaringológicas:

Tras la primera descripción de su uso en 1998 por Snoeck, el cidofovir intralesional se ha utilizado ampliamente en la papilomatosis laríngea en la infancia y en la edad adulta⁽¹⁷⁰⁾⁽¹⁶⁸⁾. Desde entonces, multitud de casos aislados, series clínicas y un ensayo clínico han sido publicados haciendo referencia a esta indicación. Según la Asociación de otorrinolaringología pediátrica británica y americana, el cidofovir es el tratamiento adyuvante más utilizado entre sus miembros, estimándose que se administra aproximadamente a un 10% de sus pacientes⁽¹⁷⁰⁾⁽¹⁷¹⁾.

En 2007 se publica una revisión sistemática recogiendo la experiencia en un total de 158 pacientes, de los cuales 90 (58%) presentaron una remisión completa, a pesar de los diferentes regímenes de tratamiento. Se encontró una respuesta parcial en un 35%, y solo en un 8% de los pacientes no se encontró respuesta. No se documentó ningún caso de malignidad⁽¹⁷²⁾.

Indicaciones ginecológicas y dermatológicas:

Existe un único estudio randomizado en el que *Snoeck et al.*⁽¹⁷³⁾ evaluaron la eficacia del cidofovir tópico en 30 pacientes con condilomas genitales. Se trataba de un estudio fase 2, doble ciego, controlado por placebo. El cidofovir fue significativamente superior a placebo induciendo una remisión completa en 47% de los pacientes. Ningún paciente presentó empeoramiento del cuadro. La seguridad y tolerabilidad del fármaco fue similar a placebo. La pauta que se utilizó fue de cidofovir 1% en gel 5 días seguidos a semanas alternas durante un máximo de 6 semanas en función de evolución. No se encontraron efectos adversos sistémicos.

Tristram et al. trataron a 12 mujeres con HSIL vulvar, algunas de ellas con extensión perianal, con cidofovir crema al 1% a días alternos durante 16 semanas⁽¹⁶⁰⁾. Se logró la remisión completa en 4 mujeres de 10 que completaron el tratamiento, y la regresión parcial en tres pacientes adicionales. Los únicos efectos adversos documentados fueron la ulceración de la mucosa afectada.

Posteriormente los mismos autores comparan el tratamiento con imiquimod y cidofovir en HSIL vulvar en un ensayo clínico en fase 2. No se encontraron diferencias significativas tras la aplicación de imiquimod (91 pacientes) versus cidofovir 1% gel (89 pacientes) 3 veces semana, alcanzándose la remisión completa en el 46% de las pacientes en cada grupo⁽¹⁷⁴⁾.

Respecto al HSIL perianal, *Bonatti et al.* aplicaron cidofovir intralesional 7,5 mg/ml en SSF 0,9% repetido a las 6 semanas, en 2 pacientes trasplantados, uno de ellos renal, inmunosuprimidos con neoplasias intraepiteliales anales asociadas a condilomas (AIN, VAIN, VIN) refractarios a imiquimod y a ablación con láser. En ambos casos el tratamiento fue eficaz⁽¹⁷⁵⁾.

En un estudio llevado a cabo por *Coremans et al.* en 8 pacientes HSH con condilomas y displasia asociada de diferentes grados 1-3, 4 de ellos infectados por VIH, aplicó una solución de cidofovir intralesional, en total 12,5-25 mg mensual asociado a electrocoagulación (si persistían lesiones)⁽¹⁷⁶⁾. Se demostró una mejoría de los condilomas en todos los pacientes tras la primera inyección. Los tres primeros pacientes presentaron aclaramiento de los condilomas y del VPH tras 4 inyecciones de cidofovir y 8 electrocoagulaciones, el cuarto paciente presentó remisión de las lesiones tras 2 inyecciones, sin requerir electrocoagulaciones. Ninguno de estos pacientes presentó recurrencias en un seguimiento de 4,5 meses. Los otros 4 pacientes mejoraron pero seguían en tratamiento con cidofovir intralesional en el momento que acabó el estudio

Stier et al. evaluaron la eficacia del cidofovir tópico al 1% en ciclos de 6x2 semanas para el tratamiento de HSIL anal y vulvar⁽¹⁶¹⁾. Se alcanzó la remisión completa en 15% pacientes y parcial en 36%. El tratamiento fue bien tolerado, siendo los efectos adversos locales.

En cérvix existen estudios que demuestran la eficacia del cidofovir en el tratamiento del CIN 3. Entre ellos destaca un estudio prospectivo multicéntrico controlado por placebo en 53 mujeres con CIN 2+⁽¹⁵⁹⁾. Se asignó aleatoriamente tratamiento con cidofovir en gel al 2% (3 aplicaciones de 3 ml a días alternos) o bien placebo. El 60,8% de las pacientes con CIN2+ tratadas con cidofovir alcanzaron una regresión completa de las lesiones frente al 20% en el grupo placebo ($p<0,01$). Se objetivó además un mayor aclaramiento viral en el grupo

del cidofovir frente al de placebo. No se observó toxicidad sistémica en ninguna paciente. Los autores encontraron que en contraste con lo que sucede con los tratamientos ablativos, el cidofovir parece más selectivo induciendo la apoptosis de las células afectas sin producir ulceración en el epitelio sano.

1.8.3. Introducción al tercer trabajo original “*Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV- infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY)*”

Como se ha comentado previamente, el tratamiento óptimo del HSIL anal no está claramente establecido, puesto que existen escasos estudios controlados y hasta la fecha no se han consensuado guías terapéuticas para esta enfermedad⁽¹⁷⁷⁾. En general se prefieren los tratamientos ablativos para las lesiones localizadas, especialmente mediante la coagulación con infrarrojos, que se puede llevar a cabo en consulta.

Sin embargo, en casos de afectación extensa, especialmente si la afectación es circunferencial los tratamientos ablativos se asocian a una importante morbilidad, por lo que el estudio de alternativas terapéuticas tópicos eficaces para el tratamiento del HSIL anal resulta especialmente interesante. La alta tasa de fracaso terapéutico con los tratamientos actualmente disponibles y la alta tendencia a la recurrencia, condiciona la necesidad de numerosas revisiones y actos quirúrgicos, lo que conlleva un elevado gasto en recursos humanos y materiales. El cidofovir resulta una alternativa prometedora para estos pacientes, por lo que consideramos de interés llevar a cabo el ensayo CIDAN 12 para evaluar la eficacia del cidofovir en esta enfermedad.

2. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS DE LOS TRABAJOS DESARROLLADOS

2. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS DE LOS TRABAJOS DESARROLLADOS

2.1. Líneas de investigación e hipótesis planteadas

Nuestro grupo ha desarrollado varias líneas de investigación propia en la epidemiología, diagnóstico y tratamiento de la infección por HPV y cáncer anal, además de una amplia trayectoria en colaboración con otros grupos españoles.

- a) A raíz de la implantación de la Unidad de cribado del HSIL anal en el Hospital Universitario La Paz, surgió la primera línea de investigación con el objetivo de conocer la prevalencia de SIL y HSIL diagnosticados mediante citología y AAR en una cohorte de pacientes HSH infectados por VIH en un Hospital terciario en Madrid. Cabe destacar que dicha Unidad fue la primera en Madrid, y una de las primeras en España por lo que la importancia epidemiológica del estudio debe entenderse en este contexto. Se pretendía además describir las características de la infección por el VPH en estos pacientes, demostrar la hipótesis de que en nuestra población de pacientes infectados por el VIH la tasa de infección por VPH es similar al de otras cohortes descritas y establecer una asociación entre distintos factores de riesgo y el desarrollo de HSIL
- b) La segunda línea de investigación responde a la necesidad de mejorar el cribado actual de HSIL, mediante la búsqueda de biomarcadores que puedan identificar a aquellos pacientes con más riesgo de presentar HSIL. Tratamos de responder a la hipótesis de que la detección del RNAm de E6/E7 de VPH-AR podría ser un marcador subrogado de HSIL, y que su detección podría mejorar el cribado actual mediante citología.
- c) La tercera línea de investigación se planteó ante la necesidad de encontrar recursos terapéuticos para los pacientes intratables mediante tratamientos

ablativos. La experiencia clínica del grupo investigación apuntaba a la hipótesis de que el cidofovir podría ser una buena opción terapéutica en estos pacientes y para demostrarla planteamos el ensayo CIDAN12 como un ensayo clínico piloto para explorar el efecto del fármaco sobre el HSIL en pacientes HSH infectados por VIH. Los motivos por los que establecimos la hipótesis que el cidofovir podría ser eficaz se resumen en tres puntos:

- Por su mecanismo de acción: Se ha comentado previamente su acción antiviral y antitumoral, con capacidad para inducir apoptosis en las células infectadas por el VPH.
- Por la experiencia de estudios previos: A pesar de predominar las series y casos aislados, existe evidencia de una acción del cidofovir en lesiones intraepiteliales displásicas asociadas al VPH. Especialmente interesante resulta la experiencia en cérvix, cuyo epitelio de transición se comporta de manera análoga al anorectal y donde en el ensayo controlado randomizado doble ciego de Van Patcherbeke se demuestra una regresión completa de las lesiones tras tres aplicaciones de cidofovir⁽¹⁵⁹⁾. Además, cabe destacar que los prometedores resultados obtenidos con cidofovir en lesiones asociadas al VPH se han obtenido en pacientes que habían fracasado con los tratamientos convencionales o bien suponían un abordaje especialmente complicado por su localización, extensión o por tratarse de población vulnerable (niños, trasplantados, pacientes infectados por VIH). El efecto inhibitor selectivo del cidofovir sobre las células infectadas por el VPH permite una tolerancia excelente en comparación con las técnicas convencionales.
- Por la experiencia propia de los investigadores: El cidofovir había sido previamente utilizado por los investigadores en forma tópica al 1%, en 6 pacientes con enfermedad anogenital severa inducida por el VPH (Cinco casos de AIN 3 y un caso de VIN 3). Cuatro de los pacientes estaban infectados por VIH.

El tratamiento fue eficaz en todos los casos, logrando la remisión completa en cuatro de ellos y parcial en dos de ellos. El grupo investigador presenta además una amplia experiencia en el uso de cidofovir intralesional en verrugas vulgares, con más de 100 pacientes tratados con éxito hasta la fecha. En ningún caso se habían observado efectos secundarios sistémicos, aunque sí ulceración cutánea.

Puesto que no existe experiencia previa publicada acerca del uso del cidofovir en el HSIL intra-anal, se inició este estudio piloto cuyo objetivo es determinar el efecto del tratamiento tópico con cidofovir al 1% en pacientes infectados por el VIH diagnosticados de HSIL intraanal.

- d) A raíz de la colaboración con el grupo CORIS-HPV surgen las siguientes líneas de investigación. Se parte de una cohorte de HSH VIH positivos naïve al tratamiento antirretroviral con determinación basal de VPH (CoRIS-VPH).
- En el año 2010, gracias a la colaboración en un estudio multicéntrico entre los años 2010 y 2012, coordinados por Cristina González desde el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III) (FIS PS09/02181) “Epidemiología y progresión clínica de la infección y de las lesiones causadas por el virus del papiloma humano (VPH) en hombres y mujeres infectados por el VIH de la cohorte coris – CORIS-VPH”, surgen los siguientes trabajos:
 1. *Anal human papillomavirus genotype distribution in HIV-infected men who have sex with men by geographical origin, age, and cytological status in a Spanish cohort.*

Se llevó a cabo un análisis transversal de 1.439 pacientes HSH infectados por VIH de la cohorte CoRIS-HPV (*Cohort of the Spanish HIV Research Network*) desde 2007 a 2012, con el objetivo de describir los genotipos de VPH anal, en función del origen geográfico y status citológico. La cohorte CoRIS se inicia en el 2007 como parte de la red Española de investigación en SIDA.

La prevalencia global de VPH, VPH-AR Y VPH-BR fueron 95.8%, 83.0%, and 72.7%, respectivamente. Entre los VPH-AR el VPH 16 fue el más frecuente, seguido de VPH 59, 39, 51, 18, y 52. La prevalencia de infección múltiple fue de 58%. No se encontraron diferencias entre genotipos en función del origen geográfico. Se encontró un pico en la prevalencia de la mayoría de los genotipos entre los 30 y los 40 años. Los varones con citología anómala tenían mayor prevalencia de infección por el VPH que aquellos con citología normal. Cabe destacar que se trata de la serie con mayor número de HSH infectados por VIH analizada en función del resultado citológico en la literatura⁽¹⁷⁸⁾.

2. *What drives the number of high-risk human papillomavirus types in the anal canal in HIV-positive men who have sex with men?*

En este estudio se analiza el efecto de el comportamiento sexual, la edad, la inmunosupresión y el número de VPH-AR en canal anal entre los HSH infectados por VIH. Se estudian 586 HSH. Se encontró que la edad tenía una relación estadísticamente significativa no lineal con el número de genotipos, que alcanza su máximo a los 35 años ($P < .001$). También el número de parejas sexuales recientes tiene una relación significativa con el número de genotipos. ($P = .033$)⁽¹²⁴⁾.

3. *Anal squamous intraepithelial lesions are frequent among young HIV-infected men who have sex with men followed up at the Spanish AIDS Research Network Cohort (CoRIS-HPV).*

En este trabajo se estudia la prevalencia basal de SIL y sus factores asociados en HSH infectados por VIH en la cohorte CoRIS-HPV. Se analizaron los resultados citológicos de 551 pacientes: 37.0% normales, 9.0% ASCUS, 41.0% LSIL, 4.0% HSIL y 9.0% fueron muestras inadecuadas. La prevalencia de SIL anal(excluyendo ASCUS) en las muestras válidas fue de 54.7%. La prevalencia global de VPH-AR fue de 81.7% y de 77.7% de infecciones múltiples. El único factor de riesgo asociado a la presencia de SIL fue el número de genotipos de VPH. Los pacientes HSH con más de 5 genotipos tenían un OR de SIL anal 7

veces mayor que aquellos con un solo genotipo. No se encontraron asociaciones entre la edad, nivel educativo, hábito tabáquico, origen geográfico, TARGA, número de parejas sexuales y el riesgo de SIL anal⁽³²⁾.

- La colaboración con este grupo se mantiene a lo largo de otra línea de investigación coordinada por la Dra. Beatriz Hernández Novoa (EC11-143: “Evaluación de la citología anal frente a la anoscopia de alta resolución en el diagnóstico y seguimiento de las lesiones preneoplásicas. Incorporación de marcadores moleculares virológicos y de proliferación celular al algoritmo”. Proyecto de Investigación Multicéntrico Ministerio Sanidad y Consumo coordinado por Hospital Ramón y Cajal). Este proyecto evalúa el valor diagnóstico de la citología anal frente a la AAR en la detección de neoplasias intraepiteliales anales (SIL) y el valor de marcadores moleculares en la gradación de SIL en HSH VIH positivos.

Aunque este trabajo no está aún publicado, se presentaron en forma de comunicación oral en el primer IANS meeting los resultados preliminares del mismo. Se reclutaron 172 pacientes en 5 hospitales españoles (Uno de ellos el Hospital Universitario La Paz). En 56 pacientes no se hicieron biopsias porque no se observaron lesiones por AAR. En los restantes 116 se obtuvieron 146 biopsias. De 172 citologías, 10.5% eran inadecuadas, 27.9% normales, 1.1% ASCUS, 45.3% LSIL y 15.2% HSIL. La histología fue inadecuada en 3.5% de los casos, normal en 25.3%, LSIL en 35.2% y HSIL en 35.9%. 116 pacientes tenían resultados citológicos e histológicos disponibles. La fuerza de la concordancia entre ambas fue moderada (Kappa 0.351; 95%CI 0.232 a 0.470). La sensibilidad y especificidad de la citología fue de 88.3 % y 66.7%, respectivamente. En 67 casos se disponía de los resultados de la tinción citológica dual p16INK4a/Ki-67 mostrando una sensibilidad de 47.3% y especificidad de 66.7% comparado con la histología. De forma preliminar los autores concluimos que la tinción p16INK4a/Ki-67 no mejora las características operativas de la citología líquida.

2.2. Objetivos, material y método

2.2.1. *“Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men”*

Objetivos.

El objetivo principal del estudio, que se ha llevó a cabo en condiciones de práctica clínica, fue describir la prevalencia del HSIL anal tras el cribado mediante citología y AAR, en una cohorte de pacientes HSH infectados por el VIH en seguimiento en un hospital terciario en Madrid.

Los objetivos secundarios fueron describir la prevalencia y características de la infección por el VPH, así como la correlación entre los hallazgos citológicos e histológicos, y finalmente los factores de riesgo asociados al diagnóstico de SIL.

Pacientes, material y métodos.

Se trata de un estudio observacional de corte transversal, en el que se incluyeron pacientes homosexuales o bisexuales con infección por el VIH confirmada, en seguimiento por la Unidad de VIH del Servicio de Medicina interna del Hospital Universitario La Paz y derivados al Servicio de Dermatología (Unidad de Diagnóstico Precoz de la neoplasia intraepitelial anal), en el periodo comprendido desde junio de 2009 hasta mayo del 2012.

Criterios de inclusión y exclusión: Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes mayores de 18 años, homosexuales o bisexuales infectados por el VIH que dieron su consentimiento por escrito. Fueron excluidos los pacientes que presentaban lesiones macroscópicas sugestivas de displasia en piel perianal en el momento de la primera visita.

Protocolo del estudio.

En la primera visita, todos los pacientes fueron evaluados mediante una historia clínica detallada que incluyó sus antecedentes personales (hábitos tóxicos, conducta sexual, parámetros relativos a la infección VIH y su tratamiento), así como datos clínicos relacionados con la sintomatología anogenital.

A todos los pacientes se les realizó una exploración física completa incluyendo inspección visual, tacto rectal y citología anal para estudio citopatológico y detección de VPH. En una segunda visita, a todos los pacientes que presentaron alteraciones en la citología se les efectuó anoscopia de alta resolución (AAR) y biopsia. Este protocolo fue presentado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Especificaciones técnicas de las pruebas realizadas.

Citología anal: La técnica de recolección de muestras para estudio citológico fue siempre efectuada por un dermatólogo y se tomó de forma ciega, siguiendo el procedimiento previamente descrito. Se utilizó la técnica de citología líquida en todos los casos (*ThinPrep Pap Test*. PreservCyt®, Marlborough, Estados Unidos).

Las muestras fueron analizadas de forma ciega por dos anatomopatólogos, especializados en el diagnóstico de estas lesiones, quienes determinaron tanto los criterios de idoneidad de la muestra, como su registro según los criterios de la clasificación de Bethesda modificada⁽¹²²⁾ para lesiones escamosas, en los siguientes grupos: Normal, Células escamosas atípicas de significado incierto (ASCUS), Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL, Displasia de Bajo Grado), y Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL, Displasia de Alto Grado).

Determinación de VPH-ADN: La detección de los distintos genotipos de VPH se efectuó mediante amplificación genómica (CLART® Papillomavirus 2 (GENOMICA S.A.U, Madrid)). Esta técnica de microarrays es capaz de detectar la

presencia de 35 genotipo diferentes de VPH: (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 y 89). La detección se lleva a cabo mediante la amplificación de un fragmento de unos 450 pb dentro de la región L1 del virus por tratarse de una secuencia que está altamente conservada entre los distintos tipos de HPV. Sin embargo, esta región presenta suficientes variaciones como para poder diferenciar cada tipo de virus con sondas específicas. De esta manera, se asegura la especificidad de la detección.

Los resultados de la detección de ADN de VPH se consideraron positivos para la detección de VPH-AR cuando se detectó alguno de los 20 genotipos considerados de alto riesgo según la categorización de Dunne (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 y 85)⁽¹⁷⁹⁾. También se llevó a cabo un sub-análisis considerando los 5 genotipos incluidos en el reactivo *NUcliSENS EasyQ HPV* (HPV 16, 18, 31, 33, y 45 de CLART) para establecer comparaciones entre ambos.

Los resultados de la detección del VPH se clasificaron como ausencia de VPH, presencia de VPH-BR, presencia de VPH-AR (si al menos un VPH de alto riesgo oncogénico estaba presente) y presencia de cada genotipo de VPH.

Anoscopia de alta resolución: La anoscopia de alta resolución (AAR) se realizó mediante la visualización del canal anal a través de un videocolposcopio (Zeiss, OPMI pico). En el procedimiento se utilizaron anoscopios desechables de plástico cubiertos de lubricante y gel de lidocaína 5%; se preparó además una tinción con ácido acético al 3% que se aplicó mediante una torunda de algodón, durante 1 minuto tras la retirada del anoscopio. Consecutivamente, se utilizó el videocolposcopio para examinar las paredes del canal anal con el objetivo de identificar áreas acetoblancas, seguida de tinción con lugol y búsqueda de lesiones lugol-negativas. Tras las tinciones, se tomaron muestras para biopsia bajo anestesia local y con pinzas baby-Tischler. Se seleccionaron para la biopsia las zonas visualmente atípicas, mediante criterios predefinidos en el estudio y que corresponden a los utilizados para la identificación

de carcinoma cervical: placas acetoblancas, áreas con patrón vascular anómalo y áreas Lugol-negativas. En los casos en los que no se encontró ninguna zona sugestiva de displasia, se tomaron biopsias ciegas a nivel de la unión escamocolumnar⁽¹⁸⁰⁾.

Las muestras histológicas fueron valoradas de forma ciega por dos anatomopatólogos, que no conocían el resultado citológico previo, y que las clasificaron como normal, LSIL(AIN 1), y HSIL(AIN 2 y 3). Si había discrepancia entre ambos se reunían en un microscopio con doble cabezal hasta llegar a un consenso entre ambos.

Método estadístico: El análisis estadístico fue realizado en la Sección de Bioestadística del HULP, utilizando como herramienta el programa informático SPSS para Windows en su versión 11.5. Las variables cuantitativas se describen mediante media y desviación típica, mediana y rango intercuartílico (RIC). En las variables cualitativas se refieren frecuencias absolutas y relativas. La descripción gráfica se efectuó mediante diagramas de cajas y gráficos de barras. En el análisis univariante fueron empleadas para la comparación de proporciones las pruebas de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. A partir de las tablas 2x2 se calcularon los índices de valor predictivo positivo. En las tablas de contingencia de 2x2 se calculó el OR y su intervalo de confianza al 95% como medida de la fuerza de la asociación. Para comparar variables cuantitativas entre dos grupos independientes se utilizó el test T de Student o ANOVA. El nivel de significación estadística se situó a priori en todas las pruebas en un valor de probabilidad $p < 0,05$.

2.2.2. “Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men”

Objetivos.

El objetivo del estudio fue evaluar las características como test del RNA m de E6/E7 del reactivo NucliSENS EasyQ para la detección de HSIL anal en HSH infectados por VIH, comparado con la detección de DNA de VPH-AR y la citología anal.

Pacientes, material y método.

Se incluyeron de forma prospectiva 101 pacientes con infección por VIH confirmada, en seguimiento por la Unidad de VIH del Servicio de Medicina interna del Hospital Universitario La Paz y derivados al Servicio de Dermatología (Unidad de Diagnóstico Precoz de la neoplasia intraepitelial anal), en el periodo comprendido desde Marzo 2012 hasta Abril del 2013.

Criterios de inclusión y exclusión: Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, HSH, con infección por VIH que dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio. Se excluyeron del estudio aquellos pacientes con antecedente de carcinoma epidermoide anal.

Protocolo del estudio.

En la primera visita, todos los pacientes fueron evaluados mediante una historia clínica detallada y una exploración física completa. En todos los pacientes se tomaron dos muestras anales mediante cepillado que fueron recolectadas en dos envases con medio líquido fijador (*ThinPrep Pap Test*. PreservCyt®, Marlborough, Estados Unidos). Uno de envases se remitió a Anatomía Patológica para estudio de las características citológicas. El otro envase se remitió al Servicio de Microbiología para la detección del VPH-ADN y para determinar la presencia del ARNm de E6/E7 del VPH mediante el reactivo NucliSENS-EasyQ HPV1.1. A todos los pacientes se les efectuó AAR y biopsia. Este protocolo fue presentado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Especificaciones técnicas de las pruebas realizadas.

Citología anal: La técnica utilizada y el procedimiento del análisis de la muestra fueron los mismos referidos anteriormente ([ver pág. 67](#)).

Determinación de VPH-ADN: Se emplearon las mismas técnicas y procedimientos descritos anteriormente ([ver pág. 67](#)).

Determinación de ARNm de E6/E7 VPH mediante el reactivo NucliSENS-

EasyQ: La extracción de ácidos nucleicos a partir de muestras de citología líquida fue realizada utilizando el sistema automático de extracción *NucliSens easyMAG* (BioMérieux). El protocolo de extracción utilizado fue el recomendado por el fabricante para este tipo de muestras. La determinación del ARN m de E6/E7 mediante el reactivo *NucliSENS-EasyQ* HPV1.1 se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. Este reactivo está basado en la técnica NASBA y detecta E6/E7 de 5 genotipos de VPH-AR: VPH16/18/31/33/45.

Los resultados de la detección del ARN m de VPH se clasificaron como ausencia de ARN m de VPH, presencia de ARN m de VPH y presencia de ARN de cada uno de los genotipos incluidos en el reactivo.

Anoscopia de alta resolución y biopsia: La técnica para la realización del procedimiento y la interpretación de resultados fue la misma descrita previamente (ver pág. 68).

Análisis estadístico: Todas las pruebas estadísticas se consideraron bilaterales y como valores significativos, se consideraron aquellos con p inferiores a 0.05. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

La descripción de los datos cuantitativos se realizó mediante media \pm desviación típica, mediana, mínimo y máximo. Los datos cualitativos se describieron a partir de las frecuencias absolutas y porcentajes.

Para analizar la asociación entre las variables cualitativas, se aplicó el test exacto de Fisher.

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se calcularon con un intervalo de confianza de 95%. El Índice de Youden se calculó para el “*endpoint*” HSIL histológico (AIN2 and AIN3) según

la formula sensibilidad + especificidad -1. La sensibilidad y especificidad con sus intervalos de confianza se reflejaron en una curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*, o Característica Operativa del Receptor).

Se calculó el porcentaje de concordancia entre ambos test de VPH. Además se estimó la concordancia global corregida por azar entre DNA de VPH-AR y-mRNA mediante el coeficiente kappa de Cohen(<0.20, pobre; 0.21–0.40 Bajo; 0.41–0.60 moderado; 0.61–0.80 Bueno; > 0.80 Muy bueno).

2.2.3. “Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY)”

Objetivos:

Este estudio piloto se llevó a cabo con el objetivo de determinar el efecto del tratamiento tópico con cidofovir al 1% en pacientes infectados por el VIH, diagnosticados de HSIL intraanal. Dicha respuesta se expresó como el porcentaje de pacientes que alcanzaron la regresión completa del HSIL anal, confirmada mediante biopsia guiada por AAR a las 8 semanas de haber finalizado el tratamiento (semana 12).

Los objetivos secundarios fueron:

- Describir el porcentaje de pacientes en los que se reduce el grado de displasia de HSIL a LSIL
- Describir el porcentaje de pacientes en los que se reduce la extensión en cuadrantes del HSIL, aunque la regresión no sea completa.
- Describir el porcentaje de pacientes en los que se producen recidivas, y el tiempo medio hasta que éstas ocurren.
- Describir el porcentaje de pacientes en los disminuye el número medio de genotipos de VPH tras el tratamiento con cidofovir

- Describir la seguridad y tolerabilidad del cidofovir tópico en su aplicación intraanal.

Pacientes, material y métodos:

Se incluyeron en el estudio pacientes adultos (≥ 18 años de edad) con infección por el VIH documentada, y antecedente de HSIL en el canal anal demostrada mediante biopsia, que no hubieran recibido ningún tratamiento previo para su HSIL en las 12 semanas previas a su inclusión. Se excluyeron aquellos pacientes que presentaban dermatosis en el área anogenital, antecedente de neoplasia infiltrante previa asociada al VPH o antecedente de neoplasia previa (de cualquier origen y localización, en los últimos 5 años). También se excluyeron pacientes que presentaran antecedente de anomalías hematológicas, renales o hepáticas y mujeres embarazadas o en período de lactancia.

Se reclutaron 17 pacientes de una cohorte de 1850 (40% HSH) pacientes infectados por VIH seguidos en la Unidad de VIH del departamento de Medicina Interna del Hospital Universitario La Paz. Otros 3 pacientes fueron reclutados de una cohorte de 2200 (37% HSH) pacientes infectados por VIH seguidos en la Unidad de VIH del Servicio de Infecciosas del Hospital Universitario Ramón y Cajal.

En ambos centros, los pacientes con riesgo de cáncer anal (HSH, mujeres con antecedente de displasia y condiloma anal o conductas sexuales de riesgo) son incluidos en un programa de cribado que incluye citología anal y AAR en caso de anomalías citológicas. Entre estas dos cohortes reclutamos a pacientes que cumplían criterios de inclusión y ninguno de exclusión y firmaron el consentimiento informado entre Septiembre 2013 y Abril 2014. Todas las visitas se llevaron a cabo en el Hospital Universitario La Paz. Tres pacientes no cumplieron los criterios de exclusión y fueron excluidos del estudio. Dos pacientes se perdieron en el seguimiento, uno de ellos no llegó a aplicarse ninguna dosis de la medicación.

Todos los pacientes que se aplicaron al menos una dosis de cidofovir constituyeron la población por intención de tratar (ITT). Los pacientes que recibieron el tratamiento completo y fueron evaluados en la semana 12 para el objetivo principal del estudio constituyeron la población por protocolo. Por tanto, la población ITT estaba formada por 16 pacientes y la de por protocolo por 15 pacientes (**Figura 6**).

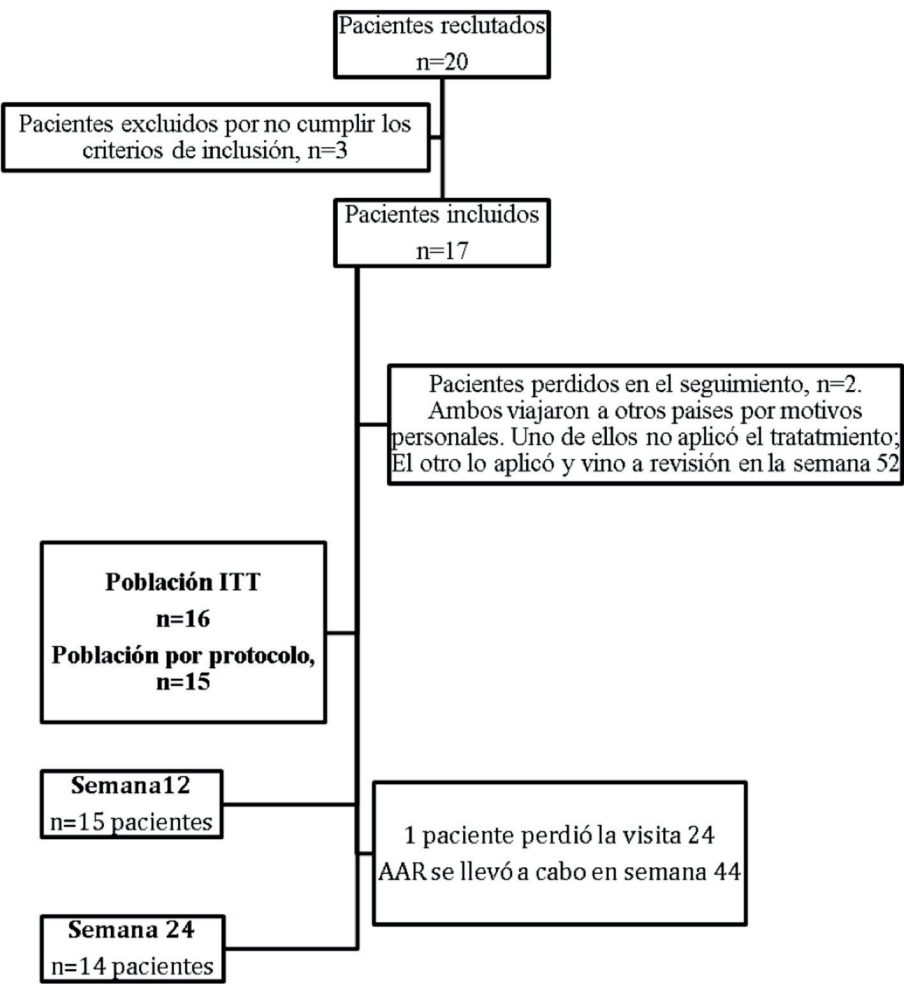


Figura 6. Diagrama de flujo que muestra el proceso de reclutamiento de los pacientes de CIDAN12

Diseño y tamaño muestral: Ensayo clínico prospectivo abierto de carácter exploratorio, unicéntrico, no controlado para estimar el efecto de un tratamiento. Se estableció para el estudio una muestra de 20 pacientes. Puesto que el objetivo era explorar de forma preliminar el efecto del fármaco en el HSIL anal, no se llevó cabo un cálculo del tamaño muestra:

Protocolo del estudio: Antes de comenzar el tratamiento (visita selección) en todos los pacientes se obtuvo el consentimiento informado por escrito, y se llevó a cabo una detallada anamnesis, exploración física y recogida de datos demográficos y hábitos del paciente. Además se extrajo una muestra de sangre y se tomaron muestras mediante cepillado anal para determinación de VPH. Se realizó una anoscopia de alta resolución, registrándose la afectación anal según cuadrantes mediante esquemas y control fotográfico. Se tomó una muestra de biopsia de la zona que clínicamente fuera sugestiva de SIL de mayor grado. La visita basal (visita 0) se llevó a cabo entre 2 y 4 semanas después de la visita de selección. A aquellos pacientes en los que se confirmó el diagnóstico histológico de HSIL se les dispensó el envase con el preparado necesario para el total del tratamiento. En caso contrario el paciente fue excluido del estudio. Los pacientes acudieron a las visitas programadas del estudio para control analítico en las semanas 2 y 4. En ambas visitas se comprobó la adherencia al tratamiento mediante un diario y se registraron los efectos adversos. Los pacientes acudieron a las visitas programadas para control clínico (AAR) e histológico (biopsia) en las semanas 12 (8 semanas tras concluir el tratamiento) y 24 (20 semanas tras concluir el tratamiento). Se registró según cuadrantes la afectación de la mucosa anal y se repitió la biopsia en la misma zona biopsiada inicialmente, incluso si no se objetivaba lesión clínica. En caso de aparecer lesiones nuevas sugestivas de HSIL se tomaron biopsias de esas zonas. Previamente se tomaron muestras mediante cepillado para la detección mediante PCR del VPH. A aquellos pacientes que al final del estudio presentaban HSIL se les ofreció un tratamiento ablativo con coagulación infrarroja de las lesiones residuales.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Tratamiento: Todos los pacientes recibieron tratamiento con cidofovir al 1% en crema base de Beeler. El cidofovir se extrajo de viales del cidofovir en solución (Cidofovir injection, Mylan Institutional®: 75 mg/mL, 5 mL vials), y se formuló al 1% utilizando como excipiente crema base de Beeler hasta conseguir una composición homogénea. El preparado se conservó en nevera (2°-8°C) hasta la dispensación al paciente, que también conservó el tratamiento en nevera en su domicilio. Se instruyó a los paciente de forma oral y escrita para la auto-aplicación intraanal a 2-3 cm de profundidad, de la cantidad equivalente a 2 gr del preparado que contiene el fármaco. El tratamiento se administró tres veces a la semana hasta un total de 12 aplicaciones (4 semanas de tratamiento). Se recomendó a los pacientes abstenerse de relaciones sexuales anales insertivas durante el tratamiento.

Técnicas utilizadas.

Determinación del VPH: En las visitas selección, 12 y 24 se tomó una muestra mediante cepillado anal (Thinprep®) que se analizó mediante la técnica de PCR (CLART® HPV2 assay GENOMICA S.A.U.) ya descrita previamente.

AAR y biopsia: En las visitas de selección, semana 12 y semana 24 se llevo a cabo AAR y biopsia por la técnica previamente descrita.

Como descrito en estudios previos, todas las muestras histológicas fueron valoradas de forma ciega por dos anatomopatólogos, que no conocían el resultado citológico previo, y que las clasificaron como LSIL (AIN 1), y HSIL (AIN 2 y 3). Cuando había discrepancia entre ambos se reunían en un microscopio con dos cabezales y llegaban a un consenso. En algunos casos, para establecer el grado de displasia se utilizó la sobreexpresión de p16.

En la visita de selección se registró la afectación anal según cuadrantes mediante esquemas y control fotográfico. Se registro el grado de afectación de cada cuadrante como: <25%, 25-50%, 51-75%, 76-100%. Se tomó una muestra de biopsia de la zona que sugería HSIL de mayor severidad. Se registró en el esquema la localización exacta de la biopsia. El análisis mediante fotografías permitió un análisis detallado de la extensión del HSIL.

En las visitas de la semana 12 y 24 se registró la afectación según cuadrantes y se biopsió en la misma zona donde se había biopsiado en la visita de selección (**Tabla 3**).

Determinaciones en el laboratorio local: En las analíticas de visitas de selección, semana 2 y 4 se recogieron los siguientes parámetros: Hemograma completo y niveles de CD4, perfil bioquímico (fosfatasa alcalina, ALT (GPT), AST (GOT), GGT, bilirrubina total, creatinina, glucosa), y carga viral. Aunque no se recogió en el CRD inicial, a solicitud del revisor de la revista AIDS, con los datos de la base del estudio y la historia clínica de los pacientes se calculó el filtrado glomerular según la fórmula “Modification of Diet in Renal Disease” en la semana basal y a las 4 semanas de tratamiento.

Criterios de respuesta.

Se definió como remisión completa a la ausencia de lesiones clínicas e histológicas de SIL en la AAR con biopsia en la semana 12 y 24 de concluir el tratamiento (visitas 12 y 24).

Se definió como una respuesta parcial a una regresión desde HSIL a LSIL.

Se definió como enfermedad estable a los que no cumplían estos criterios.

Se definió como recurrencia a la aparición de LSIL o HSIL en la semana 24 en una zona con biopsia normal en la semana 12. Se definió como lesión metacrónica a la aparición de lesiones nuevas de HSIL que no estaban descritas en las anoscopias previas.

Tabla 3. Esquema de visitas según protocolo del ensayo CIDAN12

	Selección	Basal (0)	Semana 2	Semana 4	Semana 12	Semana 24
Consentimiento informado	X					
Comprobación criterios de inclusión/exclusión	X	X				
Historia clínica, cuestionario hábitos	X				X	
Exploración física	X			X	X	X
AAR y biopsia	X				X	X
Inicio del tratamiento		X				
Fin del tratamiento				X		
Cumplimiento del tratamiento			X	X		
Registro efectos adversos			X	X	X	X
Determinaciones laboratorio						
Analítica	X		X	X		
Detección del VPH	X				X	X

Efectos adversos.

Los efectos secundarios locales se registraron según los grados de toxicidad de CTCAE (*The Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0*).

Análisis estadístico: La descripción de los datos cuantitativos se realizó mediante media±desviación típica, mediana, mínimo y máximo. Los datos cualitativos se describieron a partir de las frecuencias absolutas y porcentajes. En el análisis comparativo, cuando se trató de variables cualitativas, se aplicó la prueba de la Chi-cuadrado de Pearson o test exacto de Fisher, mientras que la prueba de Mann-Whitney o T-Student o ANOVA, dependiendo de la normalidad (Test K-S o Shapiro-Wilks) de las variables y del tamaño de la muestra, se usó para determinar la asociación entre variables cuantitativas y cualitativas.

3. RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1. Resultados de “*Prevalence of Abnormal Anal Cytology and High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Among a Cohort of HIV Infected Men Who Have Sex with Men*”

Descripción de la cohorte.

La cohorte inicial estaba constituida por 300 pacientes. Se excluyeron dos casos, por detectarse en la primera exploración, lesiones sugestivas de carcinoma epidermoide perianal confirmadas histológicamente. Ambos pacientes presentaban lesiones exofíticas ulceradas perianales que se correspondían histológicamente con carcinoma in situ en el primer caso (AIN 3) y con un carcinoma microinfiltrante en el segundo. Por tanto, 298 pacientes fueron finalmente incluidos en el estudio.

La edad media fue de $41 \pm 10,5$ años (RIC 33-49), siendo el 50% de los pacientes menores de 40 años. El 71 % de los pacientes eran españoles; respecto al origen del resto destacaba que el 19% procedían de américa del sur. Un 50% de los pacientes había cursado estudios universitarios. En la **Tabla 4** se recogen las variables relacionadas con la infección por VIH.

Tabla 4. Variables relacionadas con la infección VIH.	
(n: 298)	
Edad media al diagnóstico VIH	$33,3 \pm 8,8$ años
Años medios de infección VIH	$9 \pm 6,7$ años (RIC: 3,4-14,5).
Valor medio CD4 nadir	273 ± 205 células/mm ³ (RIC: 131-362)
Valor medio CD4 actual	651 ± 297 células/mm ³ (RIC 438-800)
Porcentaje pacientes naive	33%

El tabaquismo fue el hábito tóxico más frecuente, encontrándose un 44,4% de fumadores activos y un 12,5 % de ex-fumadores. El 48,7% admitían consumir alcohol de forma habitual, aunque la mayoría (75%) se consideraban “bebedores sociales”, ya que sólo consumían alcohol los fines de semana. En relación con otras drogas, un 15% de los pacientes las consumían en el momento del estudio.

Tabla 5. Hábitos sexuales de los pacientes de la cohorte del estudio

Hábitos sexuales	
Bisexuales	1% (n=4)
HSH	99% (n:294)
Edad media inicio relaciones sexuales	16,7 ± 3,4 años
Tipo de relaciones sexuales:	
- Ano-insertivas	21,5% (n:63)
- Ano-receptivas	23,5% (n:69)
- Indistinto	54,9% (n:161)
Uso de preservativo:	
- Siempre	76,7% (n:214)
- Nunca	10,4% (n:31)
- A veces	12,2% (n:34)
Pareja estable	52% (n:155)
Años medios de vida sexual activa	24,8 ± 11,3
Contactos sexuales medios a lo largo de la vida:	
- 1-5	4,4% (n:13)
- 6-10	8,8% (n:26)
- 11-25	10,1% (n:30)
- 26-50	16,6% (n:49)
- 50-100	25,3% (n:75)
- >100	34,8% (n:103)
Número de relaciones sexuales medias en:	
- Último mes	2,2 (DS ± 8,4, RIC:1-2)
- Últimos 3 meses	3,7 (DS ± 12; RIC:1-3)
- Últimos 6 meses	6 (DS ± 16,5, RIC:1-5)

Respecto a los hábitos sexuales, en la **Tabla 5** se recogen las variables más relevantes registradas en la cohorte

Se recogieron los antecedentes de enfermedades de transmisión sexual, que se detallan en la **Tabla 6**:

Tabla 6. Antecedente de enfermedades de transmisión sexual		
	Número de pacientes	Porcentaje respecto al total de pacientes (n:298)
Cualquier ETS	235	78,9%
Sífilis	102	34,2%
Condilomas anales	95	31,9%
Uretritis	42	14%
Hepatitis B	41	14,1%
Proctitis	23	7,7%
Herpes simple	12	4%
Hepatitis C	10	3,4%

Inspección visual y tacto rectal.

La inspección visual inicial identificó dos casos de lesiones perianales sugestivas de displasia, por lo que ambos pacientes fueron excluidos del estudio. En ambos casos se confirmó histológicamente el diagnóstico de carcinoma epidermoide perianal.

El tacto rectal fue positivo en 4% de los pacientes (n:12 casos); 66.6% (n:8) de ellos fueron diagnosticados de condilomas, 25% (n:3) de HSIL y 8,3% (n:1) de LSIL.

Estudio citopatológico.

Se obtuvieron muestras citológicas de los 298 pacientes incluidos en el estudio; todas ellas fueron consideradas adecuadas desde el punto de vista citopatológico.

El 40,9% (n:122/298; IC:35,4-46,6%) de los pacientes sometidos a cribado inicial presentó alteraciones en la citología. De esos 122 pacientes, tres se perdieron en el seguimiento. Los resultados fueron en 17 pacientes ASCUS (14,2%), en 72 pacientes LSIL (60,5%) y en 30 HSIL (25,2%).

Los resultados de las citologías y su correlación con la histología se recoge en la **Tabla 7:**

Tabla 7. Correlación entre los resultados citológicos e histológicos						
Resultado histológico						
Resultado citológico	Normal	AIN1	AIN2	AIN3	Condiloma	Total
ASCUS	8	7	7	1	1	17
LSIL	12	27	9	9	9	72
HSIL	3	8	14	14	3	30
Total	23	42	24	24	13	119

Detección de VPH

En la **Tabla 8** se recogen los resultados obtenidos en la detección de VPH.

Tabla 8. Resultados del análisis de VPH	
Resultados detección VPH (n: 298)	
Detección de algún genotipo VPH	93% (IC:90,1-95,9)
Detección de algún genotipo de VPH-AR	80,9% (IC:76,4-85,3)
Número medio de genotipos/paciente	4,6 ± 2,9. (IC: 2-6).
Detección múltiple deVPH (dos o más genotipos)	85,6% (IC:81,6-89,6)
Detección de VPH 16	35,9% (IC:30,4-41,3)
Genotipos más prevalentes en la cohorte por orden de mayor a menor prevalencia	16, 6, 51, 31, 53

AAR y biopsias.

Tres de los 122 pacientes con citología alterada, se perdieron durante el seguimiento, no pudiendo por tanto realizarse en ellos la AAR ni la biopsia.

En 22 casos no se encontraron hallazgos anoscópicos sugestivos de displasia, por lo que se efectuó biopsia ciega a nivel de la unión escamocolumnar. De ellos el 72,7% correspondieron a biopsias normales. Sin embargo, tres de esos casos presentaron AIN 1 y tres AIN 2.

La anoscopia fue considerada sugestiva de displasia en 97 pacientes tras identificarse uno o más de los patrones definidos como patológicos en la inspección visual.

De las 119 biopsias realizadas se obtuvieron 23 normales y 96 biopsias patológicas, de las cuales 83 casos fueron diagnosticados de AIN. Los resultados de las 119 biopsias realizadas fueron: Normal 19,3%(n:23), condilomas 10,9%(n:13), LSIL 14,2%(n:17), HSIL(AIN 2) 35,3%(n:42), HSIL(AIN 3)20,1%(n:24)

Por tanto, en pacientes con citología anormal la prevalencia de lesión histológica producida por el VPH (SIL o condiloma) fue de 80,7%(IC 95%, 73,6%-87,7%) y la prevalencia de HSIL del 54%(IC 95%, 45.2-62.8)

De forma global, la prevalencia de SIL de cualquier grado en la cohorte fue del 28% (22,9-33,1 IC 95%), mientras que la prevalencia de HSIL fue del 22% (17,3-26,7 IC 95%).

El valor predictivo positivo (VPP) de la AAR para detectar lesiones con cualquier resultado patológico en la biopsia fue del 93%(88,4-97,5 IC 95%). Si tenemos en cuenta exclusivamente su VPP para detectar SIL y HSIL el valor es de 79,8%(72,5-87 IC 95%) y 65,5%(57-74 IC 95%) respectivamente.

Correlación entre citología e histología.

El 73,4 % de los casos de displasia de alto grado citológica se asoció a HSIL histológica(AIN 2 o 3). La correlación fue mucho menor entre la displasia citológica

de bajo grado y la histología de LSIL: Sólo un 20,8% de los pacientes con diagnóstico citológico de LSIL presentaron biopsias con resultado de LSIL, y sin embargo hasta un 50% resultaron ser displasias de alto grado en la biopsia. Del mismo modo, el 47% de los pacientes con diagnóstico de ASCUS presentaron una displasia de alto grado histológica.

El VPP de la citología para detectar cualquier alteración histológica producida por el VPH (SIL o condiloma) y HSIL fue de 80,7% (IC95%, 73,6-87,8) y 55% (IC95%, 46,1-63,9) respectivamente

Factores de riesgo asociados al diagnóstico de SIL.

No se encontró correlación estadísticamente significativa entre la presencia y ausencia de SIL y HSIL frente a las siguientes variables: Edad, edad al diagnóstico de la infección VIH, años de evolución de la infección VIH, consumo de tabaco, alcohol u otras drogas, tratamiento TARGA o los valores de linfocitos CD4 y CD4 nadir.

No se encontró una relación estadísticamente significativa entre el diagnóstico de SIL y las variables relacionadas con la conducta sexual como el número de parejas sexuales previas o las diferentes prácticas sexuales de los pacientes (relaciones ano-receptivas o indistintas frente a los pacientes con relaciones ano-insertivas). Tampoco el uso de preservativo se relacionó con una menor incidencia de SIL.

Aunque se observó una relación lineal con una mayor incidencia de SIL entre los pacientes con más contactos sexuales a lo largo de su vida, esta no alcanzó la significación estadística.

Se encontró un mayor porcentaje de pacientes con antecedente de cualquier ETS y de condilomas en el grupo de pacientes con SIL, sin que la relación sea estadísticamente significativa. Cabe destacar que la presencia de síntomas fue notablemente más frecuente en el grupo de pacientes diagnosticados de HSIL (P:0,049). (**Tabla 9**).

Tabla 9. Factores de riesgo para la presencia de SIL

	SIL (-)	SIL (+)	P
Edad (años)	39,7 ± 10	38,5 ± 9	0,533
Años de infección VIH	10 ± 8,1	7,6 ± 6,5	0,086
CD4 (células/mm ³)	587 ± 223,49	585,9 ± 310	0,979
CD4 NADIR (células/mm ³)	275 ± 149	271 ± 228,5	0,924
Número medio de contactos sexuales/vida	4,58 ± 1,44	4,66 ± 1,37	0,788
Número medio de contactos sexuales últimos 6 meses	5,19 ± 6,3	9,29 ± 26,3	0,362
Edad primera relación sexual	17 ± 3,1	17,4 ± 3,4	0,520
Sexo ano-receptivo o indistinto	30 (29,1%%)	73 (70,8%%)	0,638
Síntomas (prurito, dolor, supuración, hemorragias)	9 (30%)	21 (70%)	0,049
Antecedente ETS	27 (26,5%)	66 (71%)	0,374
Antecedente condilomas	13 (25,5%%)	38 (74,5%)	0,219

Las variables que se asociaron a la presencia de SIL y HSIL fueron aquellas relacionadas con la infección por el VPH. Como se recoge en la **Tabla 10** el diagnóstico de HSIL se asoció a la presencia de VPH 16, VPH 51 y número medio de VPH.

La detección de VPH 16 se asoció al diagnóstico de HSIL con una OR de 6,4 (2,8-14,3). La presencia de VPH 51 también se asocio al diagnóstico de HSIL con un OR de 2,8(1,2-6,4), verificándose que esta asociación es independiente de la

presencia del VPH 16 mediante un análisis estratificado. La detección de 4 o más VPH en nuestro estudio se asoció a la HSIL con un OR 3,9 (1,6-9,4).

Tabla 10. Variables asociadas al diagnóstico HSIL				
	Biopsia normal	HSIL	P	OR
VPH 16	14 (23,3%)	46 (76,7%)	0,000	6,4 (2,8-14,3)
VPH 51	11 (28,2%)	28 (71,8%)	0,018	2,8 (1,2-6,4)
VPH medios	5,04	6,26	0,028	
≥ 4 VPH	31 (35,6%)	56 (64,4%)	0,002	3,9 (1,6-9,4)

3.2 Resultados de *”Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-infected men who have sex with men”*

Se incluyeron en el estudio 101 pacientes con una edad media de 42 años (RI 33-50).

El tiempo medio de la infección por VIH en el momento de la consulta fué de 10,5 ± 8,9 años. 90 pacientes(89%) recibían tratamiento TARGA.Las medianas de recuento de CD4 y CD4 nadir fueron 569(RI: 396-747) cels/mm³ y 170 (RI:52-314) cels/mm³ respectivamente. La carga viral del VIH fue detectable sólo en 11 pacientes, todos ellos naive al tratamiento TARGA.

Se obtuvieron 101 muestras citológicas satisfactorias. La citología presentó alteraciones en el 70,3% de los pacientes, clasificándose tal y como se muestra en la **Tabla 11**.

Se obtuvieron 101 muestras para el estudio del ADN, siendo una de ellas no valorable, para el diagnóstico por presentar un resultado de PCR inhibida.

Tabla 11. Resultado de los hallazgos citológicos.

Resultados citología	Número y porcentaje de pacientes
Normal	n: 30 29,7% (IC: 20,8% - 38,6%)
ASCUS	n: 9 8,9% (3,3% - 14,4%)
LSIL	n: 50 49,5% (39,7% - 59,2%)
HSIL	n: 12 11,9% (5,6 - 18,2)

Se identificó ADN de VPH-AR en 83 pacientes (82,2%), con un número medio de genotipos de 2 (RI:1-4). El VPH 16 fue el más prevalente, detectándose en el 31,7% de los pacientes. Cabe destacar que un 55,4% (n:56) presentaba ADN de al menos uno de los genotipos incluidos en el reactivo del ARNm E6/E7, es decir el 16, 18, 33, 31 o 45.

Se obtuvieron 101 muestras para el estudio del ARN m E6/E7, siendo una de ellas no valorable, para el diagnóstico por presentar un resultado de PCR inhibida. El ARN m E6/E7 VPH se detectó en el 57% (n:57) de las muestras anales. Se identificó ARNm de E6/7 del VPH 16, 18, 31, 33, 45 en el 37%, 14%, 19%, 9% y 11% de los casos respectivamente. La mediana de ARN m encontrados fué de 1(RI 0-1)por paciente.

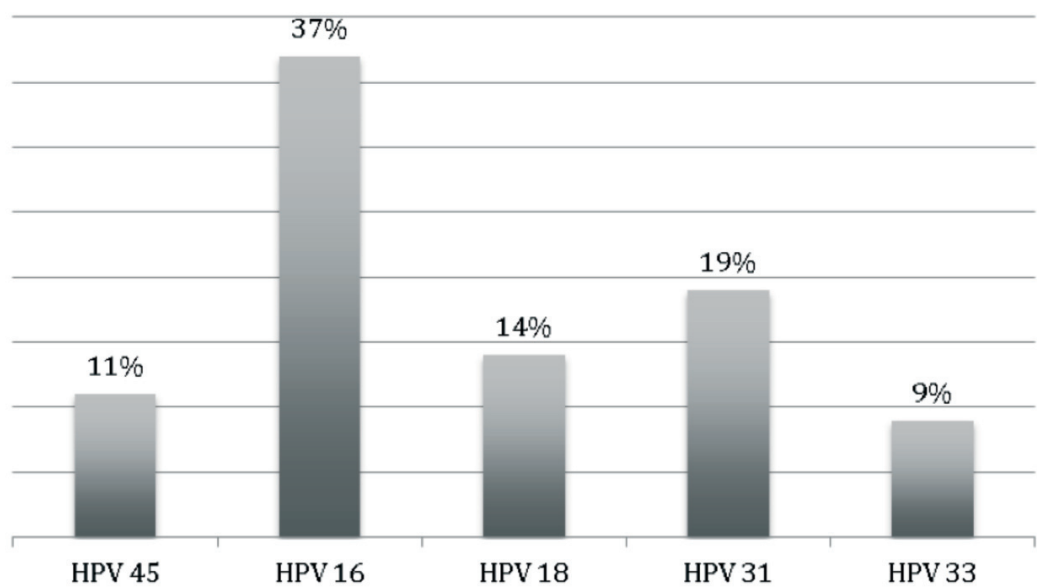


Figura 7. Porcentaje de pacientes positivos para el test de cada ARN m.

Se obtuvieron un total de 120 muestras histológicas, aunque se registró un solo resultado por paciente, que corresponde al de mayor severidad histológica. Los resultados se recogen en la **Tabla 12**. En 75 pacientes las biopsias se tomaron sobre

Tabla 12. Resultados histológicos tras AAR	
Resultados histológicos	Número y porcentaje de pacientes
Normal	n: 44 43,6% (IC: 33,9% - 53,2%)
LSIL	n: 10 9% (IC:3,4% - 14,5%)
HSIL(AIN2)	n: 25 24,8% (IC: 16,3 - 33,2%)
HSIL(AIN3)	n: 22 21,8% (13,7% - 29,8%)

lesiones sugestivas de displasia en la anoscopia de alta resolución. En 26 pacientes la anoscopia fue normal, tomándose una sólo muestra para biopsia a nivel de la unión escamocolumnar. Tan sólo en uno de estos 26 pacientes se demostró un LSIL, siendo el resto de las biopsias normales.

La correlación entre citología e histología se puede observar en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Correlación entre los hallazgos citológicos e histológicos					
Citología	Normal	LSIL	HSIL (AIN 2)	HSIL (AIN3)	Total
Normal	20	2	4	4	n: 30 29,7% (20,8-38,6)
ASCUS	14	2	1	2	n: 9 8,9% (3,3-14,4)
LSIL	18	6	15	11	n: 50 49,5% (39,7-59,2)
HSIL	2	0	5	5	n: 12 11,9% (5,6-18,2)
Total	n:44 43,6% (33,9-53,2)	n:10 9% (3,4-14,5)	n:25 24% (16,3-33,2)	n:22 21,8% (13,7-28,8)	n: 101 100%

En la **Tabla 14** se recoge el número de pacientes positivos para los diferentes test, que presentaron HSIL en la biopsia. Cabe destacar que 8 pacientes con diagnóstico de HSIL presentaron una citología normal, y 13 fueron negativos para el test del ARNm.

Tabla 14. Resultados de las pruebas de cribado

	Número de pacientes sin diagnóstico histológico de HSIL anal	Número de pacientes con diagnóstico histológico de HSIL anal
Citología anormal	32	39
Citología normal	22	8
ADN VPH-AR positivo	37	46
ADN VPH-AR negativo	17	0
ARNm E6/E7 positivo	24	33
ARNm E6/7 negativo	30	13

Como se observa en la **Tabla 15**, para la detección de HSIL anal la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo fueron del 71,7%, 55,6%, 57,9%, y 69,8% para el test del ARN m E6/E7 VPH, comparado con el 100%, 31,5%, 55,4% y 100% para el ADN-AR VPH y el 83%, 40,7%, 54,9%, 73,3% de la citología anal.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la capacidad predictiva de las 3 pruebas, puesto que los intervalos de confianza de la curva ROC (características operativas receptor) se solapan, tal y como se observa en la **Figura 8**.

Se encontraron resultados concordantes entre el DNA del VPH-AR en el 50.50% de las muestras, con un coeficiente kappa de 0,16. Cuando el análisis se hizo considerando exclusivamente los 5 genotipos incluidos en NucliSENS EasyQ HPV, la concordancia aumentaba hasta, con un coeficiente kappa de 0,43(p:000).

Tabla 15. Evaluación características como test de cribado de las técnicas estudiadas

	Citología	ADN VPH-AR	ARNm E6/7 VPH
Sensibilidad	83% (69,9%-91,1%)	100%	71,7% (57,5%-82,7%)
Especificidad	40,7% (28,7%-54%)	31,4% (20,7%-44,7%)	55,6% (42,4%-68%)
Valor predictivo positivo	54,9% (43,4%-66%)	55,4% (44,7%-65,6%)	57,9% (45%-69,8%)
Valor predictivo negativo	73,3% (55,6%-85,8%)	100%	69,8% (54,9%-81,4%)
Proporción de falsos Positivos	59,3% (46%-71,3%)	68,5% (55,3%-79,3%)	44,4% (32%-57,6%)
Proporción de falsos Negativos	17% (8,9%-30,1%)	2,1% (0,4%-11,1%)	28,3% (17,3%-42,5%)
Exactitud	60,4% (50,6%-69,4%)	62,4% (52,6%-71,2%)	63% (53,2%-71,8%)
Índice de Youden	0.23	0.31	0.26

El valor kappa de concordancia entre DNA de VPH y el RNAm de E6/E7 para cada genotipo individual fue bueno para VPH16 (κ :0.712) y VPH18 (κ :0.680), moderado para VPH 33 (κ :0.550) y bajo para VPH 31 (κ :0.297) and 45 (κ :0.329)

Las discrepancias entre el RNAm de E6/E7 y la detección de DNA de VPH-AR se describen en la **Tabla 16**.

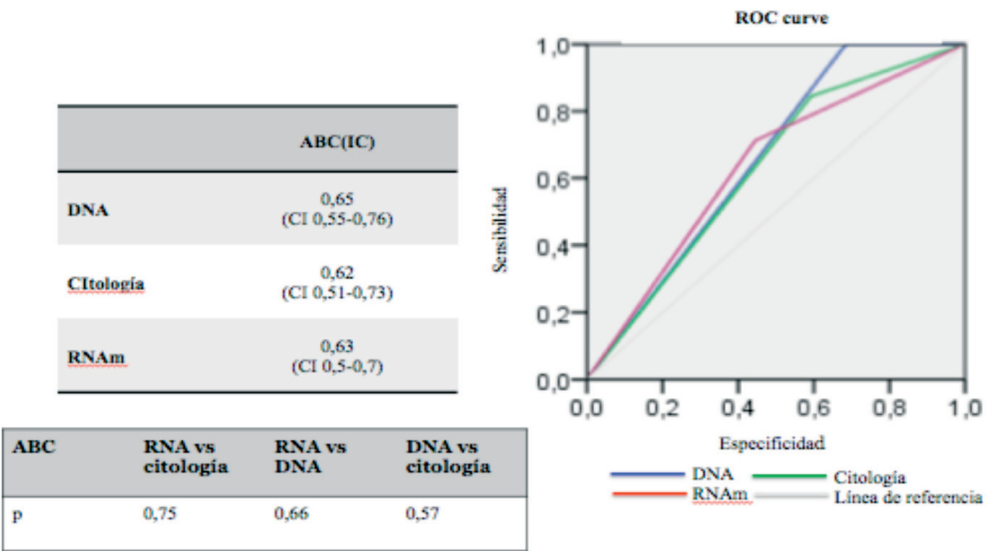


Figura 8. Curva ROC y área bajo la curva (ABC) para los tres test evaluados.

Tabla 16. Discrepancias entre el RNAm de E6/E7 y la detección de DNA de VPH-AR		
	HPV DNA+/RNA-	HPV DNA-/RNA+
HPV 16	4 (3.9%)	7 (6.9%)
HPV 18	3 (2.9%)	3 (2.9%)
HPV 31	28 (27.7%)	4 (3.9%)
HPV 33	3 (2.9%)	3 (2.9%)
HPV 45	1 (0.9%)	7 (6.9%)
Total	39 (38.6%)	24 (23.7%)

3.3.Resultados de “*Topical Cidofovir for high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV- infected patients: results of a single-arm, pilot, clinical trial (CIDAN12 / 7412 GESIDA STUDY GROUP*”

Las características basales de los 17 pacientes incluidos en el estudio se muestran en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Características demográficas y de la infección por VIH	
Sexo: n (%): - Varón	17 (100%)
Edad en años: - Mediana - Rango intercuartílico	36 28 – 41
Etnia: n (%): - Caucásico/No-Hispánico - Americano/Hispánico - Caucásico/Hispánico	2 (12%) 7 (41%) 8 (50%)
CDC grupo de riesgo: n (%) - HSH	17 (100%)
CD4 recuento basal (cells/mm ³): - Mediana - Rango intercuartílico	545 358 – 630
CD4 nadir (cells/mm ³): - Mediana - Rango intercuartílico	225 127-225
Porcentaje de pacientes con carga viral <50 copias/mm ³	93.7%
Años desde el diagnóstico de VIH: - Mediana - Rango intercuartílico	10 3 – 16

Se incluyen en el estudio 17 pacientes con diagnóstico de HSIL, 2 de ellos con AIN 3(12%) y el resto AIN 2(88%). Quince pacientes (94%) presentaban afectación multifocal. A lo largo de estudio se hicieron un total de 47 biopsias bajo anoscopia de alta resolución, todas ellas se tomaron a nivel de la zona de transformación. En 20 de 47 se utilizó la técnica p16 (42%).

Tres pacientes(20%) habían recibido algún tratamiento para su HSIL previamente (1 paciente 5 fluoracilo, 1 paciente coagulación infrarrojo y 1 paciente ambos), pero ninguno en las últimas 12 semanas.

Respuesta clínica.

El análisis por ITT (n:16) a las 12 semanas reveló que 10 pacientes de 16 alcanzan la remisión completa (62.5%; IC95%, 38.2%-85.7%). Un paciente (paciente 10) presentó una remisión parcial en la semana 12. La enfermedad se mantuvo estable en 4 pacientes(pacientes 5,6,8 y 9), aunque en 2 de ellos (pacientes 6 y 9) el área afectada disminuyó en más de un 50%. En la semana 24, 10 pacientes de 16 presentaron una biopsia normal. Siete de los 10 pacientes en remisión completa en la semana 12 seguían en remisión completa (70%; IC 95%, 47%-93%). De los 3 pacientes que no alcanzaron la remisión completa en la semana 12, 2 con HSIL (pacientes 5 y 6) y uno con LSIL(paciente 10) presentaron una biopsia normal en la semana 24. Tres pacientes presentaron HSIL en la semana 24, 1 con HSIL previo (paciente 9) y 2 que habían alcanzado la remisión completa en la semana 12(pacientes 2 y 14). En el caso del paciente 2 se trataba de una recurrencia en la misma zona donde previamente se biopsió Sin embargo en el paciente 14 la biopsia fue normal en la zona de HSIL previo, observándose una lesión metacrónica de HSIL en otro cuadrante diferente.

Un paciente (paciente 8) que estaba estable en la semana 12 entró en remisión parcial(LSIL) en la semana 24. Por último 1 paciente con remisión completa en la semana 12 no acudió a la visita de la semana 24(paciente 1), que se retrasó hasta la semana 44. Aunque la biopsia demostró que presentaba LSIL este resultado no se incluyó en el análisis por estar fuera de la ventana de la visita. (**Tabla 18**).

Tabla 18. Evolución de los pacientes en la semana 12 y 24

Paciente	Semana 0		Semana 12		Semana 24	
	Histología	Nº cuadrantes afectados	Histología	Nº cuadrantes afectados	Histología	Nº cuadrantes afectados
1	HSIL (AIN 2)	4	Normal	0	UK S 44:LSIL	UK S 44:1
2	HSIL (AIN 2)	4	Normal	0	HSIL (AIN2)	1
3	HSIL (AIN3)	1	Normal	0	Normal	0
4	HSIL (AIN 2)	2	Normal	1	Normal	1
5	HSIL (AIN 2)	4	HSIL (AIN2)	4	Normal	4
6	HSIL (AIN 2)	2	HSIL (AIN2)	1	Normal	1
7	HSIL (AIN 2)	4	Normal	1	Normal	0
8	HSIL (AIN 2)	4	HSIL (AIN2)	3	LSIL (AIN1)	3
9	HSIL (AIN 2)	4	HSIL (AIN2)	1	HSIL (AIN 2)	1
10	HSIL (AIN 2)	3	LSIL	0	Normal	0
11	HSIL (AIN 2)	2	Normal	0	Normal	0
12	HSIL (AIN3)	2	Normal	1	Normal	1
13	HSIL (AIN 2)	3	Normal	0	Normal	0
14	HSIL (AIN 2)	4	Normal	1	HSIL (AIN 2)	1
15	HSIL (AIN 2)	4	Normal	0	Normal	0
16	HSIL (AIN 2)	4	UK	UK	UK S52:LSIL	UK S52: 1

En el análisis por protocolo (n=15) en la semana 12 se observó que 10 de 15 pacientes presentaron una remisión completa (66.6%; IC95%, 42%-89%) y 1 paciente una remisión parcial (paciente 10) (6.5%, 95%CI, 0%-17%), En la semana 24, 10 de 15 pacientes (66.6%, IC95%, 42%-89%) presentaron una biopsia normal.

No se encontraron factores asociados a la respuesta clínica. Entre los factores que se analizaron se incluyeron la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica, la cifra de linfocitos CD4+ nadir, el número de VPH detectado, la detección de VPH 16, el tiempo de evolución del VIH y la extensión de la enfermedad por cuadrantes.

Análisis de VPH.

En cuanto a la detección mediante cepillado anal se detectó VPH en el 100% de los pacientes en la visita de selección. En el 50% de los casos se detectó VPH 16. Los genotipos más frecuentes fueron el VPH 52,16,58,51 y 6. El número medio de genotipos en la visita basal de VPH fue de 5.2 (DS:3.27) y disminuye en las semanas 12 y 24 hasta un número medio de 2.73(DS 3.30) y 3.87(2.26). La reducción del número medio de genotipos virales entre la visita basal y la semana 12 es estadísticamente significativa (P:0.002)

No existen diferencias significativas entre el número medio de VPH que presentan los pacientes en los que persisten lesiones de SIL frente a aquellas que presentan una biopsia normal

Adherencia y tolerancia al tratamiento.

La adherencia al tratamiento fue buena, ya que no fue preciso modificar la pauta terapéutica ni suspender el tratamiento en ningún caso. No aparecieron efectos adversos severos durante el estudio. Un paciente presentó infección por VHC aguda en la semana 2, que no se consideró imputable al tratamiento. Ningún paciente presentó efectos adversos sistémicos. Se describieron efectos adversos locales en 13 de 16

pacientes (81%, IC:62%-100%). El efecto adverso más frecuente fue las molestias locales (picor/escozor/dolor) que se presentaron en 13 pacientes (4 pacientes grado 1, 7 pacientes grado 2, 2 pacientes grado 3). Seis pacientes presentaron sangrado (todos ellos de grado 1). Cuatro pacientes presentaron flatulencia (1 grado 1, 3 grado 2) y 3 pacientes diarrea (2 pacientes grado 1 y 1 paciente grado 2). (**Tabla 19**).

Tabla 19. Número y porcentaje de pacientes que presentaron efectos adversos locales y su severidad según CTCAE

	1: n (%)	2: n (%)	3: n (%)
Molestias locales (picor, escozor o dolor)	4/15 (26%)	7/15 (47%)	2/15 (13%)
Sangrado	6/15 (4%)	-	-
Flatulencia	1 (6%)	3 (18%)	-
Diarrea	2 (13%)	1 (6%)	-

El tiempo medio en días hasta el desarrollo de algún efecto adverso local fué de 16.4 (DS:9.3), y la mediana 15 (RIC: 11-19). En todos los casos los síntomas se resolvieron en menos de tres semanas. En ningún caso fue necesario suspender el tratamiento.

Excepto en el paciente que desarrolló infección por VHC, no se encontraron alteraciones clínicamente significativas en el hemograma ni en los parámetros bioquímicos a los 2 y 4 semanas (durante el tratamiento y al finalizarlo). No se observaron variaciones significativas en los niveles de creatinina ni en el filtrado glomerular medido por la fórmula “Modification of Diet in Renal Disease formula”. Tampoco hubo modificación significativa en la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica ni en la carga viral del VIH.

4. DISCUSIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

4. DISCUSIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

La investigación de nuestro grupo en este campo se inició en el año 2009 con un estudio de cohortes, que mostró en pacientes HSH infectados por VIH una prevalencia de HSIL del 22% (17,3-26,7 IC 95%), que asciende hasta el 54%(IC 95%, 45.2-62.8) en pacientes con antecedente de alteraciones citológicas. Se mostró además una asociación estadísticamente significativa con la presencia de VPH 16, VPH 51 y con la detección más de 4 genotipos de VPH.

El segundo trabajo fue un estudio transversal que evaluó la utilidad para el diagnóstico de HSIL de la detección del RNAm E6/E7 del VPH 16, 18, 31, 33 y 45 mediante el reactivo NucliSENS EasyQ HPV assay®, frente a la citología anal y la detección del ADN del VPH-AR, en una población de HSH infectados por VIH. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el test RNAm de E6/E7 fue de 71.7%, 55.6%, 57.9%, y 69.8% respectivamente frente a 100%, 31.5%, 55.4%, y 100% de la detección de DNA VPH-AR y 83%, 40.7%, 54.9%, 73.3% de la citología anal. Por tanto, el test del RNAm E6/E7 demostró una menor sensibilidad pero una mayor especificidad y VPP para la detección de HSIL anal en HSH infectados por VIH.

Por último, el ensayo CIDAN 12 mostró el efecto del cidofovir tóxico en el tratamiento del HSIL anal en pacientes HSH infectados por el VIH. A las 12 semanas, en la población por ITT el 62.5% (IC 95%, 38.2%-85.7%) de los pacientes presentaba una remisión completa clínica e histológica. Además se objetivó una disminución en el número medio de genotipos de VPH de 5.2 a 2.73 a las 12 semanas ($p=0.002$).

La primera propuesta de un protocolo sistematizado de cribado de carcinoma anal se remonta a 1997⁽¹⁸¹⁾. Desde entonces, se han planteado modificaciones tanto en la estructura del cribado como en las técnicas a utilizar en cada etapa del mismo, con el propósito de mejorar su sensibilidad y especificidad, y facilitar su aplicación a las poblaciones de mayor riesgo, adaptándola a los recursos disponibles en cada ámbito sanitario⁽¹⁸²⁾⁽¹³³⁾.

La AAR con biopsia se ha consolidado como la técnica de elección para el diagnóstico de las lesiones displásicas del canal anal. Esta técnica presenta una alta sensibilidad y especificidad y un VPP que alcanza el 79,8% en nuestro estudio⁽¹⁸³⁾. Sin embargo, en el momento actual su disponibilidad sigue siendo limitada en la mayoría de los centros, y el personal entrenado en su uso es aún escaso. Por todo ello, es probable que la demanda asistencial que se genere en un futuro próximo no pueda ser asumida de forma eficaz por las escasas unidades especializadas disponibles.

A la hora de generalizar la aplicación de programas de cribado de carcinoma anal de forma ajustada a los recursos sanitarios disponibles, es necesario seleccionar a los pacientes que precisan ser derivados a AAR. Como métodos de cribado inicial, a aplicar a todos los pacientes de riesgo y en cualquier ámbito sanitario, es imprescindible llevar a cabo una minuciosa inspección visual y tacto rectal⁽¹⁷⁷⁾⁽¹⁸⁴⁾⁽¹²⁰⁾. Según las recomendaciones de GESIDA, sólo en centros especializados, se recomienda añadir a este cribado “básico” una citología anual para HSH y mujeres con HSIL o carcinoma cervical. En caso de citología alterada se recomienda AAR⁽¹⁸⁵⁾.

En esta línea cabe destacar que en nuestros pacientes, la inspección de la región perianal permitió detectar dos casos de carcinoma epidermoide, lesiones que resultaban evidentes desde el punto de vista clínico, pero que sin embargo habían pasado desapercibidas hasta entonces para los pacientes. Esto confirma una prevalencia del 0,6% de carcinoma epidermoide perianal en nuestra serie, y refuerza la necesidad de iniciar el cribado del carcinoma anal por la inspección visual en todos los casos. Respecto al tacto rectal se trata de un método sencillo, barato e incruento que permite identificar masas en el canal anal, por lo que la mayoría de las guías coinciden en considerar que debería realizarse al menos una vez al año en todos los pacientes infectados por el VIH, con el objetivo de detectar de forma temprana neoplasias a este nivel⁽¹⁸⁶⁾⁽¹¹⁵⁾. El tacto rectal es por tanto una herramienta diagnóstica barata, eficaz y sin duda infratutilizada. Se ha propuesto incluso que los pacientes se auto-exploren de modo análogo al auto-examen mamario en la mujer⁽¹⁸⁷⁾.

Respecto a la citología anal en medio líquido ya se ha destacado que al igual que la citología cervical, presenta una sensibilidad y especificidad moderadas para diagnosticar HSIL, con valores que oscilan entre 42-98% y 8-96% respectivamente⁽⁹⁾⁽¹²⁰⁾⁽²⁷⁾. La sensibilidad de la citología aumenta en pacientes infectados por VIH, especialmente con menores cifras de linfocitos CD4+ en sangre periférica y lesiones extensas que afecten varios cuadrantes del canal anal⁽²⁷⁾. Sin embargo sólo proporciona una correlación adecuada con la biopsia cuando se encuentra HSIL en la citología, lo que ocurre de forma poco frecuente⁽¹⁸⁸⁾. En cualquier caso, la mayoría de los expertos consideran que la citología constituye un test útil para hacer el cribado de los pacientes que deberían ser remitidos a AAR⁽²⁹⁾⁽¹²⁰⁾.

En nuestra cohorte hemos encontrado alteraciones citológicas en un 40,9% de los pacientes. Esta prevalencia es ligeramente inferior a la reportada en algunas de las series que incluyen pacientes HSH infectados por VIH, y similar a otras series más recientemente publicadas⁽³²⁾⁽⁸³⁾⁽¹⁰⁹⁾⁽¹²⁰⁾. La primera referencia española en la que se documenta el porcentaje de pacientes con alteraciones citológicas en pacientes HSH infectados por VIH corresponde a *Sirera y cols.*, que encuentran un porcentaje de anomalías citológicas del 48%⁽¹⁹⁾. Por otra parte, la serie más amplia con más de 500 pacientes incluidos, corresponde al análisis de la cohorte Co-RIS publicado por *González y cols.* (estudio en el que colaboramos) que describe un 37% de citologías normales, 9% ASCUS, 41% LSIL y 45 HSIL⁽³²⁾.

En el metanálisis de Machalek que incluye 53 estudios acerca de la displasia anal, encuentran una prevalencia de alteraciones citológicas en los pacientes HSH infectados por VIH de 57,2% (IC 51·2–63·2)⁽⁹⁾.

En nuestra cohorte, el VPP de la citología anal para el diagnóstico de SIL y HSIL, es de 69,8% y 55% respectivamente. Estos resultados concuerdan con los encontrados en estudios previos, cuyos valores oscilan entre el 18-97%⁽¹⁷⁾⁽²⁷⁾⁽¹⁹⁰⁾⁽¹²⁰⁾. Se ha confirmado que el VPP de la citología aumenta con la repetición de las tomas a

lo largo del seguimiento de los pacientes, lo que es utilizado por algunos autores para mejorar el rendimiento de la técnica⁽¹¹⁸⁾. En este sentido, consideramos que fomentar en los pacientes la adherencia y la regularidad de las visitas constituye una estrategia crucial para mejorar la rentabilidad del cribado mediante citología.

Ya se ha comentado previamente, que a diferencia de lo que ocurre en la citología cervical, no hay una buena correlación entre los hallazgos citológicos e histológicos en una proporción estimable de casos⁽¹¹⁸⁾⁽¹⁹¹⁾. Con nuestros datos, confirmamos que las citologías que demuestran HSIL se correlacionan por lo general con HSIL en la biopsia, siendo sin embargo frecuente encontrar casos de HSIL asociadas a alteraciones citológicas de menor grado (ASCUS o LSIL)⁽⁴⁷⁾⁽¹¹⁹⁾. Por tanto, constatamos que el cribado mediante citología tiende a infravalorar la displasia histológica real. Hallazgos similares se pueden observar en series previas⁽²⁷⁾⁽¹²⁶⁾⁽¹⁹²⁾, por lo que resulta obligado derivar a AAR a todos los pacientes que presenten alteración citológica, independientemente de su severidad.

Los pacientes HSH infectados por el VIH presentan un elevado riesgo de infección persistente por el VPH, especialmente por VPH-AR⁽³⁴⁾⁽¹²⁰⁾⁽¹⁹⁾. Nuestro estudio aporta evidencia adicional al respecto, detectándose infección anal por VPH en casi el 93% de los pacientes, infección múltiple en el 85,6% e infección por VPH 16 en el 35,9% de los pacientes de nuestra cohorte. Estos resultados no difieren de los datos del metanálisis referido, en el que el porcentaje de pacientes con infección por al menos un genotipo de VPH es de 90,8-94,5%⁽⁹⁾.

En nuestra serie los genotipos que se encontraron con más frecuencia fueron 16, 6, 51, 31, 53. La alta prevalencia de VPH 6 y 16 en nuestra serie coincide con lo previamente reportado en la literatura⁽¹⁹⁾⁽²⁸⁾. Concretamente, en el metanálisis de Machalek la prevalencia de infección por VPH 16 en HSH infectados por VIH fue de 35.4 %, siendo la infección por este genotipo la más frecuente en casi todas las series, probablemente por la combinación de su elevada incidencia y menor aclaramiento viral⁽¹⁸⁷⁾⁽⁹⁾.

En España, los datos acerca de la prevalencia de infección por VPH son escasos. En el 2006, *Sirera et al.* documentaron una prevalencia del 83% en 52 HSH infectados por VIH⁽¹⁹⁾. En una serie más amplia, *Ortiz et al.* documentaron una prevalencia de infección por VPH del 85.6% en 760 MSM de la cohorte HPV-CoRIS. Un 61.6% de estos pacientes presentaban infección por múltiples genotipos⁽¹⁹³⁾.

En un estudio reciente se observó que las infecciones múltiples por VPH-AR eran más frecuentes a mayor grado de alteración histológica (En 45.5% de los LSIL y 76.3% de HSIL-AIN3⁽¹⁰⁸⁾, lo que podría ser consecuencia de la inmunodepresión, de una alta exposición sexual o de ambas. Sin embargo, dado que más del 80% de los casos de carcinoma anal son producidos por VPH 16, la coinfección por varios genotipos podría ser menos importante que la infección por VPH 16.

Sahasrabuddhe et al. estimaron la etiología viral de las lesiones de HSIL utilizando algoritmos basados en la frecuencia y presunta carcinogenicidad de cada genotipo viral⁽¹⁰⁸⁾. Más recientemente *Richel et al.*, por la técnica de micro-disección por captura láser demostró que cada lesión de HSIL anal era producida por un solo genotipo viral en el 94% de los casos, y que el genotipo implicado era el VPH 16 en tan solo el 45% de los casos⁽¹⁹⁴⁾. El significado de estos datos no está claro en el momento actual, ya que existen áreas de incertidumbre acerca del posible papel de los VPH-BR en lesiones de HSIL en pacientes inmunodeprimidos⁽¹⁹⁵⁾.

El objetivo de nuestro estudio era determinar la prevalencia de SIL. El porcentaje de pacientes biopsiados que presenta SIL y HSIL en nuestra cohorte es de 69,6% y 55,4% respectivamente. En el total de la cohorte cribada la prevalencia de SIL y HSIL es de 28% y 22%. En la literatura la prevalencia de SIL es muy variable, fundamentalmente como consecuencia de las diferencias en el diseño del estudio, la interpretación histológica y la pericia del anoscopista en la identificación de las lesiones sugestivas de SIL. Nuestros resultados no son diferentes de los obtenidos en otras series prospectivas, que incluyen pacientes HSH infectados por VIH. En

una reciente serie española que incluye 556 pacientes HSH infectados por VIH de 2 hospitales catalanes, se encuentra una prevalencia algo inferior, del 10,6%⁽¹⁰⁹⁾. Otro estudio español, llevado a cabo en Granada encuentra en una cohorte de 201 pacientes una prevalencia del 18,4% de HSIL. En la mayoría de las cohortes europeas, la prevalencia de SIL varía entre el 16%-19,4%⁽¹⁰⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁶⁾. Según los datos del metanálisis de *Machalek y cols.*, la prevalencia de HSIL en este subgrupo poblacional es del 29%⁽⁹⁾. Sin embargo en algunas series americanas y canadienses la prevalencia publicada parece ser mayor. Como ejemplo, *Salit et al.* encuentran una prevalencia de SIL y HSIL de 68% y 25% respectivamente⁽¹²⁰⁾ en 401 pacientes HSH infectados por VIH. Por su parte, *Palefsky y cols.* describen un porcentaje aun mayor en su cohorte de California constituida por 357 pacientes HSH infectados por VIH, con un 81% de SIL, y 52% de HSIL⁽²⁶⁾.

La menor prevalencia de SIL en nuestra población con respecto a algunos de los estudios previamente mencionados admite diversas explicaciones. En primer lugar, debe destacarse que en nuestra cohorte existe un elevado porcentaje (33%) de pacientes diagnosticados recientemente de la infección por VIH. Aunque en la presente serie no se ha podido demostrar, en los estudios de *Chin-Hong et al.* y *Nathan et al.* los años de diagnóstico de la infección por el VIH constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de SIL, lo que podría explicar la menor prevalencia de displasia anal encontrada en nuestros pacientes⁽²⁷⁾⁽¹⁹⁷⁾. Además las cifras de linfocitos CD4+ en sangre periférica en nuestra serie son relativamente altos, lo que podría haber contribuido a una menor prevalencia de displasia. Por otra parte sólo se practicó AAR a los pacientes con alteraciones citológicas, lo que probablemente suponga una infraestimación en la verdadera prevalencia de SIL, teniendo en cuenta la posibilidad de falsos negativos de la misma⁽¹⁹⁸⁾. Además, nuestros pacientes fueron reclutados de forma aleatoria, sin que en ningún caso hubieran sido cribados previamente por patología anorectal o sintomatología local actual como ocurre en las series quirúrgicas.

Los factores de riesgo para presentar SIL han sido analizados previamente. En una de las series más amplias, *Swedish y cols.*, encuentran que los factores predictivos de mayor importancia para predecir la presencia de HSIL son la infección VIH, la infección anal por VPH-AR y la presencia de HSIL en la citología⁽¹⁹⁸⁾.

A diferencia de otras series, en nuestra cohorte el diagnóstico de SIL no se asoció estadísticamente con la edad, años de infección por VIH, tratamiento TARGA ni tipo de relación sexual⁽²⁷⁾⁽¹⁹⁷⁾⁽⁸³⁾. Observamos una tendencia no significativa a la asociación, entre el diagnóstico de SIL y las cifras más bajas de linfocitos CD4+ en sangre periférica en el momento del diagnóstico y nadir, un mayor número de contactos sexuales a lo largo de la vida, la presencia de antecedentes de enfermedades de transmisión sexual y la presencia de sintomatología anorectal. Es probable que el tamaño de nuestra serie fuese insuficiente para mostrar una relación significativa.

La cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica, como indicador de la situación inmunológica, se ha considerado un factor de riesgo clásico para la presencia de SIL. En algunos estudios se ha descrito una relación inversa entre la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica y el HSIL⁽¹¹³⁾. Una cuestión que aún no se ha podido responder es si lo que determina el mayor riesgo de cáncer es la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica actual, la cifra nadir de linfocitos CD4+ en sangre periférica, o el tiempo que ha permanecido el paciente con cifras bajas de linfocitos CD4+ en sangre periférica⁽¹⁹⁹⁾⁽²⁰⁰⁾. *Bertisch et al.* demostraron en una cohorte suiza de pacientes infectados por VIH, que aunque las cifras actuales y nadir de linfocitos CD4+ en sangre periférica se asociaban con la incidencia de cáncer anal, la cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica 6-7 años antes del diagnóstico era el factor de riesgo más potente para el desarrollo de cáncer anal (OR 14, 95 % CI 4-51, para cifras de linfocitos CD4+ en sangre periférica <200 cels/mm³ vs ≥500 cels/mm³)⁽²⁰¹⁾.

Sin embargo, existen discrepancias en la literatura sobre la asociación entre las cifras de linfocitos CD4+ en sangre periférica y la presencia de SIL, ya que en varias

series no se demuestra esta asociación⁽⁸³⁾⁽⁹⁸⁾. En nuestra cohorte, esta asociación tampoco se ha confirmado, posiblemente por estar constituida por pacientes con una mejor situación basal, y por tanto cifras de linfocitos CD4+ en sangre periférica mayores. En la serie de *González et al.*, trabajo en el que colaboramos, tampoco se encontró asociación entre presencia de SIL y cifra de linfocitos CD4+ en sangre periférica en el momento del diagnóstico, como tampoco se demostró en una serie amplia del grupo de Richel en Amsterdam⁽⁴³⁾.

Del mismo modo, la cifra nadir de linfocitos CD4+ en sangre periférica también se ha asociado al diagnóstico de SIL en algunas cohortes, reflejando una posible relación entre el deterioro inmunológico basal severo y el riesgo aumentado para displasia anal⁽⁸³⁾⁽¹⁰⁰⁾⁽²⁰²⁾. En el estudio de Piketty la cifra nadir de linfocitos CD4+ en sangre periférica fue un predictor independiente de cáncer anal en pacientes infectados por VIH(39). Sin embargo, de nuevo en nuestros pacientes, al igual que en otras series, la cifra nadir de linfocitos CD4+ en sangre periférica fueron relativamente altos lo que pudo contribuir a que no observáramos dicha asociación⁽⁴³⁾⁽¹⁰⁰⁾.

Se ha propuesto que otro factor que puede conducir a un mayor riesgo de carcinoma anal es el tiempo de inmunodepresión, es decir de la duración de la infección por el VIH⁽²⁰³⁾. Así, en un reciente estudio llevado a cabo en una cohorte de 4.901 pacientes infectados por VIH, se observó que los pacientes diagnosticados hace más de 15 años, tenían una incidencia de carcinoma anal doce veces mayor que aquellos en los que la infección tenía una duración de menos de 5 años ($p < 0.01$)(6). Esta observación resulta muy interesante a la hora de seleccionar los pacientes con el mayor riesgo de presentar un carcinoma anal (y por tanto en los que el cribado resulta más necesario), que serían por tanto aquellos pacientes HSH en los que la infección por el VIH es de mayor tiempo de evolución.

En nuestra cohorte el diagnóstico de SIL se asoció significativamente a la presencia de VPH 16, VPH 51 y con un mayor número medio de VPH. La asociación más

fuerte se encuentra entre la detección de VPH 16 y el diagnóstico de HSIL, con una OR de 6,4 (2,8-14,3). Nuestros datos coinciden con los resultados reportados por otros grupos, que han descrito previamente la detección de VPH 16 y un mayor número de genotipos como factores de riesgo asociados al diagnóstico de SIL⁽¹⁷⁾⁽⁸³⁾⁽¹²⁶⁾. En el estudio de *González et al.* se encontró una asociación entre un mayor número de genotipos de VPH-AR y la presencia de SIL, constituyendo el único factor de riesgo asociado a SIL (OR: 7.4, IC 95 % 2.8–19.6 para 5 o más genotipos de riesgo comparado con un solo genotipo)⁽³²⁾.

Desde nuestro punto de vista, y a diferencia de lo que ocurre en pacientes HSH seronegativos, la altísima prevalencia de infección por VPH-AR y VPH16 invalida el uso de la detección del virus como test de cribado primario para el HSIL en HSH infectados por el VIH⁽¹¹⁹⁾⁽¹⁹⁰⁾⁽¹⁹¹⁾. Sin embargo, y a la espera de la consolidación de nuevas técnicas que puedan mejorar el cribado, como podría ser el uso de biomarcadores, consideramos que la presencia de este dato añade información relevante a la citología, puesto que la detección del VPH 16 en pacientes con citología alterada podría ser considerado como un criterio adicional de selección de aquellos pacientes que deben ser remitidos a AAR con mayor prioridad en zonas donde el acceso a la misma es más restringido⁽¹³⁸⁾⁽¹⁴⁰⁾.

Algunos autores han propuesto el uso de la PCR del VPH en casos de citología negativa, en los si no se detectase VPH, sería innecesario derivar a AAR. En caso de detectarse VPH-AR recomiendan AAR. Estos grupos destacan que aunque la detección de VPH demuestra una especificidad y VPP muy bajos, la sensibilidad y VPN alcanzan cifras de hasta el 100%, y abogan que su uso evitaría el infra-diagnóstico de HSIL, que podría darse hasta en un 22% de los casos⁽¹²⁰⁾⁽²⁰⁴⁾⁽²⁰⁵⁾.

Aunque la sensibilidad en una prueba de cribado es crucial, la especificidad también debe tenerse en cuenta a la hora de detectar una enfermedad de latencia prolongada como el HSIL, en la que la prueba “oro”, la AAR, tiene una disponibilidad escasa,

precisa llevarse a cabo en centros hospitalarios, es desagradable para el paciente y presenta la posibilidad de complicaciones derivadas de la técnica. Teniendo en cuenta que para prevenir el cáncer anal, solo trataremos las lesiones de HSIL la especificidad debe ser aceptable y sin embargo la de la citología anal es pobre, con valores que varían entre 32-59%⁽²⁰⁶⁾. Esta escasa especificidad redundará en que un porcentaje considerable de pacientes sin HSIL serán derivados a AAR, resultando en un aumento del gasto sanitario⁽¹⁴⁰⁾. Como se ha comentado, dada la alta prevalencia de la infección por VPH en pacientes de riesgo el cribado mediante VPH-AR presenta una especificidad aún menor, por lo que se uso queda también limitado en esta población⁽¹¹⁹⁾.

Es interesante considerar además que según publican estudios recientes, un porcentaje no desdeñable de HSIL regresan de forma espontánea (hasta en un 23% de los casos, menos frecuentemente en casos de infección por VPH 16 según los datos publicados por *Tong y cols.*⁽²¹⁾ Este dato invita a la reflexión acerca de si sería necesario tratar todos los casos de HSIL. Desafortunadamente no existe en el momento actual ninguna prueba que distinga aquellos HSIL que progresarán a cáncer de los que no lo harán. Tanto el estudio SPANC en Australia⁽²⁰⁷⁾ (en el que se propone reclutar 600 HSH infectados y no infectados por VIH en los que llevar a cabo detección VPH, citología y AAR y estudiar su evolución a lo largo de 3 años) como un estudio multicéntrico que está siendo dirigido en el momento actual por Palefsky (Clinical Trials NCT02059499, en el que se comparan 3 ramas: una rama de tratamiento con imiquimod, otra de 5-fluoracilo y otra de vigilancia sin tratamiento) podrían aclarar en el futuro aspectos esenciales acerca de la historia natural del HSIL en pacientes que no reciben tratamiento.

Mientras tanto, buena parte de los esfuerzos investigadores en este campo se centran en encontrar biomarcadores que puedan detectar las infecciones transformantes por VPH, mejorando el cribado y seleccionando a aquellos pacientes cuyo riesgo de

progresión a cáncer infiltrante es mayor, y que por tanto van a obtener el máximo beneficio del tratamiento de sus lesiones de HSIL anal⁽²⁰⁸⁾.

Por tanto, según lo expuesto, aunque es probable que la derivación a un centro especializado con experiencia en AAR sea coste-efectivo en la población de alto riesgo, sería interesante disponer de un test que además de ser sensible y específico, identificara las lesiones de HSIL que tienen un mayor riesgo de evolucionar a un carcinoma infiltrante⁽¹²⁸⁾. Esto conduciría a una reducción de los costes del cribado sistemático de toda la población de riesgo, la carga de trabajo en los centros especializados, y el número de pacientes que se someten a esta intervención.

Aunque los biomarcadores son caros (entre 30-50 euros por test), la AAR es una técnica que requiere tiempo(45 min), tiene una curva de aprendizaje larga y el coste del material que se utiliza es relativamente elevado (un colposcopio cuesta entre 6000 y 12,000 euros).

Actualmente, existen varios reactivos comercializados que detectan el RNA m de E6/E7 de VPH-AR de E6/E7-mRNA. Los reactivos NucliSENS-EasyQ y PreTect-HPV-Proofer[®] detectan el VPH-AR de 5 genotipos virales. Ambos test están basados en la misma tecnología NASBA. Existen otros 2 test comercializados, que detectan un total de 14 genotipos virales de riesgo (Aptima-HPV[®], HPV-OncoTect[®]).

Existe amplia evidencia de que la detección del RNAm de E6/E7 presenta una menor sensibilidad pero una mayor especificidad para la detección de HSIL cervical comparado con la detección de DNA de VPH-AR⁽²⁰⁹⁾⁽²¹⁰⁾⁽²¹¹⁾. Sin embargo, son escasos los estudios publicados en muestras anales para el diagnóstico de HSIL en pacientes HSH infectados por VIH.

Wentzesen et al. estudiaron en una serie de 363 HSH infectados por VIH, el uso de varios biomarcadores como predictores de HSIL⁽²⁰⁸⁾. En su estudio la detección de ADN de VPH-AR presentó la mayor sensibilidad para el diagnóstico de HSIL,

seguida del marcador citológico dual p16/ki67 y el RNA m de E6/E7. Sin embargo, el mayor índice de Youden se obtuvo para el RNAm de E6/E7. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del RNA m E6/E7 para el diagnóstico de HSIL fue en su cohorte de 79,8%, 62,4%, 50% y 86% respectivamente. Este grupo fue el primero en utilizar la tinción dual de p16INK4a/Ki-67 mostrando una sensibilidad y especificidad de 92% y 44%. Llama atención la gran diferencia de resultados, si bien son preliminares, en cuanto a la sensibilidad del p16INK4a/Ki-67 en el trabajo multicéntrico coordinado por Beatriz Hernandez, y en el que colaboramos, con una sensibilidad del 47.3% y especificidad de 66.7% comparado con la histología, que podría explicarse por diferencias en la técnica de tinción con el estudio de Wentzesen.

Por otra parte, *Silling et al.* publicaron recientemente una serie en 289 HSH infectados por VIH en los que se compararon las características del test de RNAm y el ADN del VPH-AR⁽²¹²⁾. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del test ARN m E6/E7 para la detección de HSIL fue de 95.3%, 46.0%, 98.1%, 25.2% respectivamente.

Phanuphak y cols.⁽²¹³⁾ publicaron una serie en HSH, 123 seronegativos y 123 infectados por VIH. Fueron los primeros en utilizar en muestras anales un reactivo que cubre la detección de RNAm de E6/E7 de los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, y 69((HPV-OncoTect®). Compararon los resultados de este test con otros biomarcadores y con la citología anal (DNA VPH-AR, tinción p16, y detección de VPH 16 y/o18). Aunque incluye una población heterogénea de pacientes no infectados e infectados por VIH, cabe destacar, que junto con nuestro estudio, son los únicos publicados que comparan el uso de biomarcadores con la citología anal.

En cuanto a los resultados de su análisis, en la visita basal el RNAm de E6/E7 fue el mas sensible en HSH de forma global (64.7%). La especificidad fue similar para el RNA (57.9%), el DNA VPH-AR (54%), y la tinción p16 (56.5%). La citología

anal sin embargo presentó en su estudio una sensibilidad de tan solo el 18.8% y una especificidad de 88.2% para HSIL. Los autores explican esta falta de sensibilidad como una consecuencia de su falta de experiencia en la técnica, especialmente desde el punto de vista cito-patológico.

Por tanto según sus datos, el RNAm E6/E7 sería el mas sensible, seguido de la detección de VPH-AR, tinción p16 y la detección de VPH 16/18. El área bajo la curva fue mayor para el RNAm, indicando una mayor proporción de casos correctamente clasificados, pero sin diferencias estadísticamente significativas con la citología anal. Los autores proponen el uso conjunto de citología anal y RNAm porque con esta combinación se alcanzaba mayor sensibilidad y mayor número de casos clasificados correctamente, que con cada uno de los test de forma aislada. Cabe destacar que esta combinación alcanzo una sensibilidad y especificidad de 82.6% y 52.5%. En nuestro estudio la citología anal de forma aislada ya alcanzó una sensibilidad del 83% y una especificidad del 40,7%, por lo que el valor de añadir el RNAm como biomarcador sería indudablemente menor. El valor de la sensibilidad de la citología anal en nuestra serie es elevado, en parte porque la toma de la muestra se llevó a cabo por personal experto y por otra, y más importante porque los patólogos que analizaron las muestras de este estudio tienen una amplísima experiencia en el campo de la citología anal y cervical.

Por último, *Dupin y cols.* publican en 2015 un estudio en el que comparan en 120 pacientes infectados por VIH las características como test de RNAm de E6/E7 mediante el test Aptima® (que incluye 14 genotipos virales), la tinción p16INK4A/Ki-67 en citología, y la detección de DNA-VPH-AR⁽²¹⁴⁾. La sensibilidad de la detección de ADN VPH-AR fue del 93% y la especificidad de 51%. La sensibilidad del RNAm de E6/E7 para la detección de LSIL y HSIL fue de 88% y 78%. La combinación de la detección de DNA de VPH-AR, RNAm E6/E7 y p16 (INK4A)/Ki-67 descartó correctamente displasia en 55% de los casos. Los autores proponen

por tanto que la combinación de éstos tres biomarcadores sería útil, destacando que en su estudio ningún caso de HSIL se habría infradiagnosticado en el caso de hacer citología y biopsia solo en pacientes positivos para alguno de los tres test (DNA VPH-AR y/o RNAm E6/E y/o 7 p16INK4A/Ki-67).

Desde nuestro punto de vista no parece un abordaje coste-efectivo, puesto que solo 8 pacientes (6%) fueron negativos para las tres pruebas, y de ellos uno presentó LSIL, por lo que consideramos que probablemente el coste de dicha estrategia no justifique el beneficio de evitar la AAR a un porcentaje tan bajo de pacientes.

Tanto en el estudio de Phanuphak como en el de Dupin se utiliza un test de RNAm que incluye 14 genotipos de VPH, con valores de sensibilidad y especificidad de 64,7% y 57,5% en el primero, y 88% y 78% en el segundo frente a 71.7% y 55.6% en nuestro estudio con un test que solo incluye 5 genotipos virales.

Solo un porcentaje de 7% de los casos de cáncer anal fueron producidas por un genotipo de VPH no incluido en los 5 del NucliSENS-EasyQ HPV assay® según datos de Silling y Kreuter⁽²⁰⁾⁽²¹²⁾. Sin embargo, series más amplias han descrito la implicación en el cáncer anal de otros genotipos como los VPH 51/52/59/68 en biopsias de cáncer anal, especialmente en pacientes infectados por VIH⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁹⁾⁽²¹⁵⁾. Cabe destacar además, que en nuestro primer estudio encontramos una alta prevalencia de VPH 51 que además se asociaba a HSIL y que este genotipo no se encuentra entre los incluidos en el test NucliSENS-EasyQ HPV assay®.

Por otra parte no existen estudios actualmente que comparen en ano las características de los test que incluyen 5 y 14 genotipos virales, aunque en cérvix el NucliSENS-EasyQ HPV assay® ha demostrado menor sensibilidad y mayor especificidad que el Aptima®⁽²⁰⁹⁾⁽²¹⁶⁾. Sin embargo, la sensibilidad en el estudio de Phanuphak fue menor a la de nuestro estudio y por el contrario la especificidad fue mayor, al igual que ocurre en el estudio de Dupin. Obviamente, estos datos han de interpretarse con

cautela y reproducirse mediante comparación directa de ambos test en una cohorte con mayor número de pacientes.

En nuestra cohorte la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para la detección de HSIL anal fueron del 71,7%, 55,6%, 57,9%, y 69,8% para el test del ARN m E6/E7 VPH, comparado con el 100%, 31,5%, 55,4% y 100% para el ADN-AR VPH y el 83%, 40,7%, 54,9%, 73,3% de la citología anal. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la capacidad predictiva de las 3 pruebas.

En nuestro estudio, y al igual que en otras series como la de *Silling et al.* encontramos discrepancias entre el RNAm y el DNA VPH-AR para cada genotipo individual⁽²¹²⁾. Globalmente, encontramos 39 casos de positividad de DNA de VPH-AR que eran negativos para el RNAm E6/E7 del mismo genotipo. Esto podría explicarse porque no todas las infecciones son transcripcionalmente activas para la expresión de E6/E7, reflejando un estado episomal. Por otra parte, había 24 casos en los que no se detectó DNA VPH-AR de los 5 genotipos implicados en el NucliSENS EasyQ HPV assay®, siendo sin embargo positivo el RNAm E6/E7 de alguno de ellos. Se ha postulado que esto podría explicarse por una baja carga viral, variaciones intra-tipo del genoma del VPH o por secuencias borradas durante la integración⁽²¹⁷⁾.

En nuestro estudio, hemos evaluado las características como test de la detección del ARNm E6/E7 del VPH 16, 18, 31, 33 y 45 mediante el reactivo NucliSENSEasyQ HPV assay® frente a la citología anal y la detección del ADN del VPH-AR, en una población de HSH infectados por VIH. Los pacientes incluidos en el estudio representan una población infectada por VIH típica, en la que la mayoría de los pacientes siguen tratamiento TARGA, presentan bajas cargas virales y altos niveles de CD4. Aproximadamente el 82% de los varones reclutados presentaban ADN de VPH, y un 46,5% fueron diagnosticados de HSIL, lo cual concuerda con lo esperado en una serie de estas características, según los valores recogidos en la literatura⁽⁹⁾.

Las características como test del ARNm VPH E6/E7 obtenidas en nuestro estudio, son muy similares a las obtenidas en la serie de *Wentzen y cols.*⁽²¹⁸⁾. Aunque las diferencias no son estadísticamente significativas en nuestro estudio, los resultados indican que el test del ARNm E6/E7 presenta una mayor especificidad y VPP para el diagnóstico de HSIL anal, en comparación con la detección del ADN del VPH-AR y la citología anal, siendo sin embargo la sensibilidad menor. Cabe destacar que como se ha comentado previamente la AAR es una técnica poco accesible, ya que se ofrece en pocos centros, y por tanto el uso de un test con mayor especificidad resulta útil para evitar derivaciones innecesarias. Sin embargo el menor valor de la sensibilidad, obligaría a un seguimiento exhaustivo de los pacientes ARNm E6/E7 negativos.

Por otra parte, el test del RNAm de E6/E7 podría teóricamente identificar a aquellos pacientes con un riesgo mayor de progresión, dado que el potencial oncogénico del VPH depende de la expresión de estas oncoproteínas. Los estudios llevados a cabo en cérvix sugieren que la sobre-expresión de E6 y E7 es en efecto un marcador específico de aquellas lesiones de HSIL que tienen mayor riesgo de hacerse infiltrantes y requerir intervención⁽²¹⁹⁾. Estudios longitudinales ayudaran a aclarar si aquellos pacientes diagnosticados de HSIL y positivos para el test de ARNm presentan un peor pronóstico que aquellos que son negativos para el test.

Hay que destacar que nuestro estudio acerca del RNAm como test presenta importantes limitaciones. El diseño transversal del estudio limita el valor del VPP y VPN del test a largo plazo. El hecho de que el test NucliSENS EasyQ HPV assay® solo detecte el RNAm de 5 genotipos limita su sensibilidad, por lo que sería interesante reproducir el mismo estudio con los resultados de un test de 14 genotipos. Por otra parte, y como punto fuerte cabe destacar que la nuestra es la única serie en la que se comparan las características como test de la citología anal, el ADN de VPH-AR y el RNAm de E6/E7 en el diagnóstico de HSIL anal en una muestra homogénea de pacientes HSH infectados por VIH.

Por tanto, según nuestros resultados, el cribado primario con este test no mejora el abordaje actual mediante citología en nuestra práctica clínica. Sin embargo, podría ser útil y coste-efectivo en medios donde la disponibilidad de AAR sea escasa, ya que se reduciría el número de falsos positivos derivados innecesariamente para AAR.

Como se ha desarrollado previamente, el tratamiento de la displasia anal no está claramente establecido, y desafortunadamente ninguno de los tratamientos propuestos hasta la fecha está exento de recidivas. A diferencia de lo que ocurre en cérvix donde las lesiones de HSIL se tratan de forma eficaz mediante conización, en el canal anal no es posible realizar una intervención similar por la posibilidad de secuelas graves como la estenosis anal.

Hasta la fecha, son escasos los estudios prospectivos que analizan tratamientos para el HSIL anal y los resultados de los mismos son poco alentadores.

Wieland y cols. fueron pioneros, demostrando una respuesta completa en 61% de 28 pacientes tratados con imiquimod tópico intranal⁽¹⁵⁰⁾. Posteriormente un estudio prospectivo demostró que el 5-Fluoracilo tópico en 46 pacientes permitió alcanzar una respuesta completa en 39% de los pacientes, aunque el 50% recurrió a los 6 meses⁽¹⁵²⁾. Un tercer estudio prospectivo valoró el resultado del tratamiento mediante coagulación infrarroja de HSIL anal en 39 pacientes: En 79% de 29 pacientes infectados por VIH la enfermedad persistió o recurrió⁽²²⁰⁾. Mas recientemente se ha publicado un estudio acerca del uso de la terapia fotodinámica en 15 pacientes HSH infectados por VIH. Solo en 4 casos se encontró una respuesta completa mantenida⁽²²¹⁾. En una reciente revisión sistemática se encontró que solo existía un ensayo clínico randomizado para el tratamiento de HSIL anal. En dicho ensayo se comparaba imiquimod con placebo en 53 pacientes⁽²²²⁾. Solo un 14% de los pacientes tratados presentaron una respuesta completa y 29% presentaron una respuesta parcial⁽¹⁵¹⁾. A raíz de estos datos, se realizó recientemente un ensayo comparando

imiquimod, 5-fluoracilo tópico y electrocoagulación en 156 HSH infectados por VIH. La electrocoagulación demostró ser superior a ambos tratamientos tópicos, aunque en los 3 grupos las recurrencias superaron el 50%. En el 2015 se ha publicado un estudio prospectivo en el que 44 pacientes con HSIL anal o perianal reciben tratamiento con imiquimod 5% a diario 5 días. Si no se observaba respuesta a las 16 semanas se pautaba de nuevo otras 16 semanas. Se observó una remisión completa o parcial en el 45% de los pacientes con HSIL a las 16 semanas y hasta el 66% de 44 pacientes si consideramos aquellos que llevaron a cabo un segundo ciclo⁽¹⁵³⁾.

En cualquier caso, si hasta el momento, no se ha establecido un protocolo de tratamiento del HSIL anal es en buena parte porque ninguno de los tratamientos propuestos ha demostrado altas tasas de remisión completa mantenida en el tiempo. En líneas generales, la mayoría de los autores coinciden en ofrecer un tratamiento ablativo a los pacientes con HSIL localizado, y en caso de afectación extensa un tratamiento tópico, generalmente con imiquimod o 5 Fluoracilo⁽¹⁴⁴⁾.

Dadas las dificultades terapéuticas que presenta el HSIL, la alta tasa de recidiva y la presunta alta tasa de regresión espontánea de las mismas cabría preguntarse si merece la pena tratar el HSIL. La revisión de la literatura nos ayuda a esclarecer la incertidumbre al respecto, ya que actualmente sabemos que los pacientes no tratados tienen una mayor tasa de progresión a cáncer invasivo. Ya se ha comentado el estudio de Devaraj y Cosman, que describieron en un grupo de 40 pacientes con HSIL la progresión a carcinoma infiltrante en 3 de ellos⁽¹⁰⁶⁾. En 2 estudios similares en los que pacientes con HSIL hacían seguimiento sin tratamiento de las lesiones se observó progresión de 2 de 42 y 8 de 72 pacientes⁽²²⁾⁽²²³⁾. En el primero de estos estudios *Weis y cols.* incluyeron 124 pacientes. Cuarenta y dos pacientes no recibieron tratamiento, de los cuales 37 seguían presentando HSIL y 2 un carcinoma invasivo con un seguimiento medio de 1,8 años. De los 98 pacientes que recibieron coagulación infrarroja, 73 (74%) no tenían evidencia de displasia y

ninguno evolucionó a un carcinoma infiltrante ($p < 0.0001$) en comparación con los no tratados. En el estudio de *Pineda y cols.*, se desarrolló cáncer en sólo 3 de 246 pacientes con HSIL tratados con AAR y coagulación de las lesiones, 2 de los cuales fueron pérdidas de seguimiento⁽²²⁴⁾.

Goldstone y cols. recientemente publicaron que en 14 años de experiencia con AAR, solo 5 de 727 pacientes progresaron a un carcinoma infiltrante, y que todos excepto 1 habían sido pérdidas de seguimiento⁽¹⁴⁸⁾. Otros tres estudios no encontraron evolución a cáncer en pacientes tratados mediante ablación del HSIL con infrarrojos⁽⁵⁷⁾⁽¹⁴⁶⁾⁽²²³⁾. Mas recientemente *Crawshaw et al.* encontraron que 3 pacientes de 324 evolucionaron a cáncer, 2 no cumplieron el seguimiento y el tercero rechazó las alternativas terapéuticas tópicas que le propusieron⁽²²⁵⁾.

En nuestra experiencia con mas de 300 pacientes con HSIL tratados [con coagulación infrarroja en caso de lesiones localizadas, y tratamiento tópico en caso de lesiones extensas (imiquimod, 5-fluoracilo, cidofovir)] solo hemos encontrado un caso de progresión a cáncer infiltrante en un paciente de 35 años, con HSIL muy extenso que afectaba a 4 cuadrantes y que no respondió a ninguno de los tratamientos propuestos: IRC, electrocoagulación, 3 cirugías amplias, imiquimod, 5-fluoracilo, cidofovir... A lo largo del seguimiento dicho paciente perdió 2 visitas sucesivas por una depresión, y en la siguiente visita fue diagnosticado de un carcinoma infiltrante T1N0M0, que se trató de forma satisfactoria con el tratamiento convencional de quimio y radioterapia. La respuesta fue excelente y el paciente sigue libre de enfermedad 2,5 años después. En las anoscopias bianuales no se han vuelto a visualizar lesiones de HSIL.

El ensayo CIDAN12 es el primero en evaluar la respuesta al cidofovir tópico en HSIL del canal anal en HSH infectados por VIH. Dos de cada 3 pacientes que completaron el tratamiento alcanzaron una remisión completa, y todos los pacientes que iniciaron el tratamiento lo completaron a pesar de los frecuentes efectos adversos

locales. Además esta respuesta se asocio con una disminución estadísticamente significativa en el número de genotipos virales en la semana 12.

Como se ha comentado en la introducción, estudios previos han demostrado que el cidofovir es un fármaco eficaz en enfermedad producida por VPH, incluso en pacientes con inmunodepresión severa. La mayoría de los estudios se han centrado en el tratamiento de condilomas anogenitales o displasia en pacientes infectados por el VIH y en VIN o CIN en mujeres infectadas inmunocompetentes^{(159)(161) (174)}.

Van Pachterbeke y cols. evaluaron la eficacia del cidofovir en gel versus placebo en 48 mujeres diagnosticadas de CIN 2, que fueron posteriormente conizadas⁽¹⁵⁹⁾.

Los autores encontraron que el 60.8% de los pacientes de la rama del cidofovir comparado con el 20% del grupo placebo estaban libres de CIN tras solo 3 aplicaciones de cidofovir 2% gel. No se registró ningún caso de efectos adversos sistémicos.

Más recientemente *Tristram y cols.* compararon la eficacia y seguridad de cidofovir gel 1% 3 veces en semana frente a imiquimod para el tratamiento de HSIL vulvar en un ensayo randomizado en fase 2⁽¹⁷⁴⁾. Se alcanzó la remisión completa en el 46% de los pacientes que recibieron cidofovir y el mismo porcentaje en los que recibieron imiquimod, aunque este grupo presento mayor número de efectos adversos.

Por último *Stier y cols.*, evaluaron la eficacia del cidofovir tópico al 1% en 6 ciclos de 2 semanas para el tratamiento de HSIL perianal y vulvar en pacientes infectados por VIH, con remisión completa en un 15% de los casos y parcial en 36%. El tratamiento fue bien tolerado, siendo los efectos adversos locales⁽¹⁶¹⁾.

Si comparamos nuestros resultados con los previamente comentados, el porcentaje de pacientes que alcanzan la remisión completa en nuestro ensayo es similar al encontrado por *Van Pachterbeke y cols.* para el tratamiento del CIN 2, a pesar de que solo aplicaron 3 dosis de cidofovir en total⁽¹⁵⁹⁾. Frente a estos resultados, hemos

encontrado en nuestro ensayo un mayor porcentaje de pacientes que alcanzan la remisión completa que el publicado para el tratamiento de HSIL perianal y vulvar en los ensayos de *Stier y cols.* y *Tristram y cols.*, a pesar de que en ambos se utilizaron pautas de tratamiento más prolongadas⁽¹⁶¹⁾⁽¹⁷⁴⁾.

Es posible, que los mejores resultados encontrados en nuestro ensayo sean consecuencia de un efecto más intenso del cidofovir en la mucosa que en la piel. Puesto que se trata de una molécula muy polar, su biodisponibilidad a través de un estrato corneo intacto podría ser limitado y siempre menor que en las mucosas⁽¹⁵⁶⁾.

Como se ha comentado previamente se han utilizado otros tratamientos tópicos para el HSIL anal, fundamentalmente imiquimod y 5-fluoracilo. Aunque la evidencia a través de ensayos clínicos controlados es escasa, ambos tratamientos han demostrado cierta eficacia en el tratamiento de HSIL anal, con tasas de remisión completa del 17% al 61%⁽¹⁴⁵⁾⁽¹⁵¹⁾⁽¹⁵²⁾.

Sin embargo el cidofovir podría presentar ventajas frente a ambos fármacos. A diferencia de lo que ocurre con el 5-fluoracilo que tiene un efecto citotóxico directo y no selectivo, el cidofovir sólo induce apoptosis en las células infectadas por el VPH sin afectar a la piel o mucosa circundante⁽¹⁷⁴⁾⁽¹⁶²⁾⁽¹⁵⁹⁾. Además el efecto del cidofovir no depende del estado de inmunidad del huésped, mientras que los inmunomoduladores como el imiquimod podrían perder eficacia en pacientes inmunodeprimidos⁽²²⁶⁾.

Se han documentado altas tasas de recurrencia con todos los tratamientos utilizados para el HSIL, especialmente en pacientes infectados por VIH⁽¹⁴⁵⁾. El porcentaje de 13.3% de recurrencia/lesiones metacrónicas encontradas en nuestro ensayo es menor a lo previamente publicado con otros tratamientos como el imiquimod y el 5-fluoracilo⁽¹⁵¹⁾⁽¹⁵²⁾. Sin embargo, el pequeño tamaño de la muestra y el escaso período de seguimiento no permiten extraer conclusiones al respecto.

Estudios previos han documentado cambios en los genotipos virales del VPH y carga viral tras el tratamiento de HSIL. Tanto el imiquimod como el 5-fluoracilo disminuyeron de forma significativa el número de genotipos de VPH detectados así como la carga viral del mismo. Concretamente, el imiquimod disminuyó de forma significativa el número de genotipos de VPH en pacientes que respondieron al tratamiento mientras que en el caso del 5-fluoracilo la disminución fue independiente a la respuesta clínico-histológica⁽¹⁵¹⁾⁽¹⁵²⁾. *Richel et al.* especularon que a diferencia de la respuesta específica anti-VPH inducida por el imiquimod, el 5-fluoracilo disminuiría la carga viral del VPH a través de una destrucción no específica de la mucosa⁽¹⁴⁵⁾. Sin embargo, el tratamiento con infrarrojos no se ha asociado a una disminución de la carga viral ni del número de genotipos de VPH.

En nuestro ensayo, el cidofovir condujo a una disminución del número de genotipos de VPH en la semana 12, que al igual que en el estudio del 5-fluoracilo, fue independiente de la respuesta clínico-histológica. Una vez más, el pequeño tamaño muestral no permite extraer conclusiones definitivas acerca del efecto del cidofovir en el aclaramiento viral.

Los efectos adversos del cidofovir por vía sistémica han sido descritos previamente e incluyen nefrotoxicidad, neutropenia y más raramente acidosis metabólica⁽¹⁵⁶⁾. El cidofovir tópico parece un tratamiento seguro, ya que no observamos ningún caso de toxicidad sistémica ni cambios en el filtrado glomerular antes y después del tratamiento.

Sin embargo, la tolerancia fue pobre puesto que un elevado porcentaje de pacientes presentaron efectos adversos locales. Este hecho contrasta con el presunto mecanismo de acción del cidofovir, que induce apoptosis solo en las células infectadas pero no en los queratinocitos no infectados⁽⁹⁷⁾. Es probable, que la alta tasa de efectos adversos locales sea una consecuencia de que en el ensayo un porcentaje elevado (93%) de pacientes presentaban HSIL muy extensa y por tanto la mucosa destruida por el

fármaco fue considerable, conduciendo a mayores efectos adversos locales. Sin embargo, el cumplimiento terapéutico fue bueno, posiblemente como consecuencia de la brevedad del esquema terapéutico aplicado y de que los efectos adversos se iniciaron en la mayoría de los pacientes en las últimas semanas del mismo.

Somos conscientes de las limitaciones de este ensayo. En primer lugar se trató de un ensayo piloto de una sola rama no controlado, en una pequeña muestra de pacientes con HSIL anal infectados por VIH. En segundo lugar en ausencia de una rama placebo no podemos discernir hasta que punto la resolución de las lesiones puede atribuirse al efecto del fármaco frente a la posibilidad de una regresión espontánea. Como se ha comentado previamente un estudio reciente sobre la historia natural del HSIL documentó un porcentaje de 23%⁽²¹⁾. En tercer lugar, el periodo de seguimiento de 24 semanas fue demasiado corto para obtener conclusiones acerca del beneficio del tratamiento a medio-largo plazo. Además, no se ha podido establecer la dosis óptima y el esquema terapéutico apropiado, ya que es posible que los pacientes que alcanzaron una remisión parcial o no respondieron se hubieran beneficiado de un curso mas prolongado de tratamiento.

En cualquier caso, cabe destacar que incluso en los casos en los que no se lograra una remisión completa, el cidofovir podría disminuir el área a tratar, de forma que se pudiese en un segundo tiempo aplicar coagulación infrarroja o cualquier otro tratamiento ablativo dirigido a las lesiones residuales de HSIL.

Los puntos fuertes de nuestro estudio incluyen su diseño prospectivo, la alta tasa de biopsias, el análisis del VPH, el hecho de que la AAR se llevara a cabo en todos los casos por el mismo anoscopista con amplia experiencia en este campo, la revisión independiente de las muestras por dos patólogos, y el uso de p 16 en histología.

El cribado del HSIL y su generalización, han sido objeto de controversia en los últimos diez años, y en el momento actual, la realidad es que aún no existen guías

nacionales o internacionales que lo impongan como práctica clínica habitual. Sin embargo, durante todos estos años los estudios poblacionales y nuestra experiencia clínica, reflejan la realidad del incremento alarmante en el diagnóstico de carcinoma anal, especialmente en los pacientes infectados por el VIH.

Nuestro conocimiento actual acerca del papel del VPH en el carcinoma anal, y acerca de la historia natural del HSIL, nos obliga a ofrecer a nuestros pacientes la mejor prevención disponible. La citología anal es una técnica sencilla e incruenta, pero antes de generalizarla en nuestros pacientes de riesgo, debemos ser capaces de ofrecer un diagnóstico de certeza y un tratamiento si existen alteraciones en la misma. Es decir, que si no existe AAR en el propio centro, los pacientes deberán ser remitidos a centros en los que ésta sea posible. Si no existe la posibilidad de realizar una AAR, el seguimiento regular en consulta de los pacientes de alto riesgo debería incluir la exploración mediante examen digital rectal, con el fin de detectar masas sugestivas de un carcinoma anal.

En nuestra opinión, y a la espera de evidencias definitivas acerca de su impacto en la morbilidad y mortalidad del carcinoma anal a largo plazo, el cribado del HSIL debería incluirse de forma sistemática en los procedimientos de seguimiento clínico de las poblaciones inmunodeprimidas y con infección anogenital crónica por VPH-AR, y muy especialmente los pacientes infectados por VIH.

Al igual que ocurre en otros países europeos, el cribado del HSIL puede ser una prestación a ofrecer desde la consulta de dermatología, como especialistas en ITS, y más concretamente en el diagnóstico y tratamiento de las lesiones intraepiteliales asociadas al VPH. Sin embargo, el abordaje de la misma debe establecerse desde una perspectiva multidisciplinar, en la que una estrecha colaboración con otras especialidades como medicina interna, cirugía general, digestivo, microbiología y anatomía patológica resultan cruciales para lograr la mejor calidad en la atención a estos pacientes.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1. En nuestro medio los pacientes HSH infectados por el VIH presentan una alta tasa de infección por VPH, SIL y HSIL. Debe destacarse especialmente la elevada prevalencia de HSIL (22%) encontrada en nuestros pacientes.
2. El diagnóstico de SIL se relaciona según nuestros datos con la presencia de infección por VPH 16 y 51, así como con la presencia de más de 4 genotipos de VPH en el canal anal.
3. El uso del RNAm como test de cribado del SIL anal presenta una menor sensibilidad frente al DNA VPH-AR y la citología anal, pero una mayor especificidad y VPP.

Según nuestros datos dicho test no aporta ventajas a nuestro abordaje actual mediante citología y AAR, teniendo en cuenta la elevada sensibilidad de la citología en nuestro centro.

4. El tratamiento con cidofovir 1% en el tratamiento del HSIL anal en pacientes infectados por VIH fue eficaz en 62% de los pacientes, con lesiones recurrentes/meta crónicas en 13% de los pacientes.
5. A pesar del elevado porcentaje de efectos adversos locales, el cidofovir tópico podría ser considerado una alternativa terapéutica en pacientes que presentan enfermedad multifocal, que no puede abordarse mediante tratamiento ablativo convencional.
6. Los resultados de nuestro estudio avalan la realización de ensayos clínicos controlados para conocer la eficacia, seguridad y duración de la respuesta en el tratamiento del HSIL anal con cidofovir tópico en comparación con otros tratamientos.

6. REFERENCIAS

6. REFERENCIAS

1. Joseph DA, Miller JW, Wu X, Chen VW, Morris CR, Goodman MT, et al. *Understanding the burden of human papillomavirus-associated anal cancers in the US. Cancer.* 2008;113(1):2892–900.
2. Frisch M, Glimelius B, Van Den Brule AI, Wohlfahrt J, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. *Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. N Engl J Med.* 1998;160(49):7109–17.
3. Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR. *Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. Cancer.* 2004;101(2):281–8.
4. Van der Zee RP, Richel O, de Vries HJC, Prins JM. *The increasing incidence of anal cancer: Can it be explained by trends in risk groups? Neth J Med.* 2013;71(8):401–11.
5. Piketty C, Selinger-Leneman H, Grabar S, Duvivier C, Bonmarchand M, Abramowitz L, et al. *Marked increase in the incidence of invasive anal cancer among HIV-infected patients despite treatment with combination antiretroviral therapy. AIDS.* 2008;22(10):1203–11.
6. Crum-Cianflone NF, Hullsiek KH, Marconi VC, Ganesan A, Weintrob A, Barthel R V, et al. *Anal cancers among HIV-infected persons: HAART is not slowing rising incidence. AIDS.* 2010 Feb 20;24(4):535–43.
7. Chiao EY, Krown SE, Stier EA, Schrag D. *A population-based analysis of temporal trends in the incidence of squamous anal canal cancer in relation to the HIV epidemic. J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;40(4):451–5.
8. Bower M, Powles T, Newsom-Davis T, Thirlwell C, Stebbing J, Mandalia S, et al. *HIV-associated anal cancer: has highly active antiretroviral therapy reduced the incidence or improved the outcome. J Acquir Immune Defic Syndr;* 2004;37(5):1563–5.

9. Machalek D a, Poynten M, Jin F, Fairley CK, Farnsworth A, Garland SM, et al. *Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. Lancet Oncol.* 2012;22(12):1–14.
10. Abramowitz L, Benabderrahmane D, Ravaud P, Walker F, Rioux C, Jestin C, et al. *Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. AIDS.* 2007;21:1457–65
11. Van der Zee RP, Richel O, de Vries HJC, Prins JM. *The increasing incidence of anal cancer: Can it be explained by trends in risk groups? Neth J Med.* 2013;71(8)401-11
12. Schwartz LM, Castle PE, Follansbee S, Borgonovo S, Fetterman B, Tokugawa D, et al. *Risk factors for anal HPV infection and anal precancer in HIV-infected men who have sex with men. J Infect Dis.* 2013;208(11):1768–75.
13. Diamond C, Taylor TH, Aboumradi T, Bringman D, Anton-Culver H. *Increased incidence of squamous cell anal cancer among men with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy. Sex Transm Dis.* 2005;32(5):314–20.
14. Arbyn M, Sanjosé S De, Saraiya M, Sideri M, Palefsky J, Lacey C, et al. *2011 Roadmap on prevention and treatment of HPV-related disease. Int J Cancer.* 2012 24;28–55.
15. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. *The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Int J Gynecol Pathol.* 2013;32(1):76–115.
16. Fox PA. *Human papillomavirus and anal intraepithelial neoplasia. Curr Opin Infect Dis.* 2006;19(1):62-6.

17. *Palefsky JM, Holly EA, Efirdc JT, Da Costa M, Jay N, Berry JM, et al. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. AIDS. 2005;19(13):1407–14.*
18. *Kreuter A, Brockmeyer NH, Hochdorfer B, Weissenborn SJ, Stücker M, Swoboda J, et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. J Am Acad Dermatol. 2005;52(4):603–8.*
19. *Sirera G, Videla S, Piñol M, Cañadas MP, Llatjos M, Ballesteros AL, et al. High prevalence of human papillomavirus infection in the anus, penis and mouth in HIV-positive men. AIDS. 2006;20(8):1201–4.*
20. *Kreuter A, Potthoff A, Brockmeyer NH, Gambichler T, Swoboda J, Stucker M, et al. Anal carcinoma in HIV-positive men: results of a prospective study from Germany. Br J Dermatol. 2010;162(6):1269–77.*
21. *Tong WWY, Jin F, McHugh LC, Maher T, Sinclair B, Grulich AE, et al. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men. AIDS. 2013;27(14):2233–43.*
22. *Watson AJ, Smith BB, Whitehead MR, Sykes PH, Frizelle FA. Malignant Progression of Anal Intra-Epithelial Neoplasia. ANZ J Surg. 2006;76:715–7*
23. *Watson AJM, Smith BB, Whitehead MR, Sykes PH, Frizelle FA. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. Br J Surg. 2006;92(9):1133–6.*
24. *Henquet CJM. Anogenital malignancies and pre-malignancies. J Eur Acad Dermatology Venereol JEADV. 2011;25(8):885–95.*
25. *Bray F, Loos AH, McCarron P, Weiderpass E, Arbyn M, Møller H, et al. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European countries: changing risk and the effects of screening. Cancer Epidemiol biomarkers.2005;14(3):677–86.*

26. Park IU, Palefsky JM. *Evaluation and Management of Anal Intraepithelial Neoplasia in HIV-Negative and HIV-Positive Men Who Have Sex with Men. Curr Infect Dis.*; 2010;12(2):126–33.
27. Nathan M, Singh N, Garrett N, Hickey N, Prevost T, Sheaff M. *Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings. AIDS.* 2010;28(3):373–9.
28. Anderson JS, Vajdic C, Grulich AE. *Is screening for anal cancer warranted in homosexual men? Sex Health.* 2004;1(3):137–40.
29. Goldman S, Auer G, Erhardt K, Seligson U. *Prognostic significance of clinical stage, histologic grade, and nuclear DNA content in squamous-cell carcinoma of the anus. Dis Colon Rectum.* 1987;30(6):444–8.
30. Stanley MA, Winder DM, Sterling JC, Goon PK. *HPV infection, anal intraepithelial neoplasia (AIN) and anal cancer: current issues. BMC Cancer.* 2012; 8;12:398.
31. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. *Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. Int J cancer.* 2009;124(7):1626–36.
32. González C, Torres M, Benito A, Del Romero J, Rodríguez C, Fontillón M, et al. *Anal squamous intraepithelial lesions are frequent among young HIV-infected men who have sex with men followed up at the Spanish AIDS Research Network Cohort (CoRIS-HPV). Int J Cancer.* 2013;133(5):1164–72.
33. Ouhoumane N, Steben M, Coutlée F, Vuong T, Forest P, Rodier C, et al. *Squamous anal cancer: Patient characteristics and HPV type distribution. Cancer Epidemiol.* 2013;37(6):807–12.
34. De Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Vézina S, Côté P, Macleod J, et al. *Prevalence, clearance, and incidence of anal human papillomavirus infection in HIV-infected men: the HIPVIRG cohort study. J Infect Dis.* 2009;199(7):965–73.

35. *Kojic EM, Cu-Uvin S. Update: human papillomavirus infection remains highly prevalent and persistent among HIV-infected individuals. Curr Opin Oncol. 2007;19(5):464–9.*
36. *Robinson D, Coupland V, Møller H. An analysis of temporal and generational trends in the incidence of anal and other HPV-related cancers in Southeast England. Br J Cancer. 2009;100(3):527–31.*
37. *Jin F, Stein AN, Conway EL, Regan DG, Law M, Brotherton JML, et al. Trends in anal cancer in Australia, 1982-2005. Vaccine. 2011;29(12):1982–2005.*
38. *National Cancer Institute. Surveillance Research Program. SEER Stat Fact Sheets: Anal Cancer[Internet],nd,[consultado 10/10/2015]. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html>*
39. *Piketty C, Selinger-Leneman H, Bouvier A-M, Belot A, Mary-Krause M, Duvivier C, et al. Incidence of HIV-related anal cancer remains increased despite long-term combined antiretroviral treatment: results from the french hospital database on HIV. J Clin Oncol. 2012;30(35):4360–6.*
40. *Nielsen A, Munk C, Kjaer SK. Trends in incidence of anal cancer and high-grade anal intraepithelial neoplasia in Denmark, 1978-2008. Int J Cancer. 2012;130(5):1168–73.*
41. *Levi F, Te V-C, Randimbison L, La Vecchia C. Incidence of anal carcinoma in Vaud, Switzerland, 1979-2001. Eur J Cancer Prev. 2004;13(3):213–5.*
42. *Richel O, Zee RP Van Der, Smit C, Vries HJC De, Prins JM. Anal Cancer in the HIV-Positive Population : Slowly Declining Incidence After a Decade of cART. 2015;69(5):602–5.*
43. *Richel O, De Vries HJC, Dijkgraaf MGW, Van Noesel CJM, Prins JM. Risk factors for the presence of anal intraepithelial neoplasia in HIV+ men who have sex with men. PLoS One. 2013;8(12):e84030*
44. *De Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Trottier H, Vézina S, Côté P, et al. HAART and Progression to High-Grade Anal Intraepithelial Neoplasia*

- in Men Who Have Sex with Men and Are Infected with HIV. Clin Infect Dis.* 2011;52(9):1174–81.
45. Reekie J, Kosa C, Engsig F, Monforte ADA, Wiercinska-Drapalo A, Domingo P, et al. Relationship between current level of immunodeficiency and non-acquired immunodeficiency syndrome-defining malignancies. *Cancer.* 2010;116(22):5306–15.
 46. Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, Engels E, Gill MJ, Goedert JJ, et al. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clin Infect Dis.* 2012;54(7):1026–34.
 47. Chin-hong P V, Palefsky JM. Natural History and Clinical Management of Anal Human Papillomavirus Disease in Men and Women Infected with Human Immunodeficiency. *Clin Infect Dis.* 2002;35(9):1127-34.
 48. D'Souza G, Wiley DJ, Li X, Chmiel JS, Margolick JB, Cranston RD, et al. Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008;48(4):491–9.
 49. Daling JR, Weiss NS, Hislop TG, Maden C, Coates RJ, Sherman KJ, et al. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *N Engl J Med.* 1987;317(16):973–7.
 50. Cress RD, Holly EA. Incidence of anal cancer in California: Increased incidence among men in San Francisco, 1973-1999. *Prev Med (Baltim).* 2003;36(5):555–60.
 51. Guler T, Uygur D, Uncu M, Yayci E, Atacag T, Bas K, et al. Coexisting anal human papilloma virus infection in heterosexual women with cervical HPV infection. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;288(3):667–72.
 52. De Sanjosé S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res.* 2002;89(2):201–11.
 53. Santoso JT, Long M, Crigger M, Wan JY, Haefner HK. Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2010;116(3):578–82.

54. *Hernandez BY, McDuffie K, Zhu X, Wilkens LR, Killeen J, Kessel B, et al. Anal human papillomavirus infection in women and its relationship with cervical infection. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;14(11):2550–6.*
55. *Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L, et al. Acquisition of anal human papillomavirus (HPV) infection in women: the Hawaii HPV Cohort study. J Infect Dis. 2008;197(7):957–66.*
56. *Frazer IH, Crapper RM, Medley G, Brown TC, Mackay IR. Association between anorectal dysplasia, human papillomavirus, and human immunodeficiency virus infection in homosexual men. Lancet. 1986;2(8508):657–60.*
57. *Sirera G, Videla S, Piñol M, Coll J, García-Cuyás F, Vela S, et al. Long-term effectiveness of infrared coagulation for the treatment of anal intraepithelial neoplasia grades 2 and 3 in HIV-infected men and women. AIDS. 2013;27(6):951–9.*
58. *Arends MJ, Benton EC, McLaren KM, Stark LA, Hunter JA, Bird CC. Renal allograft recipients with high susceptibility to cutaneous malignancy have an increased prevalence of human papillomavirus DNA in skin tumours and a greater risk of anogenital malignancy. Br J Cancer. 1997;75(5):722–8.*
59. *Adami J, Gäbel H, Lindelöf B, Ekström K, Rydh B, Glimelius B, et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. Br J Cancer. 2003;89(7):1221–7.*
60. *Patel HS, Silver ARJ, Northover JMA. Anal cancer in renal transplant patients. Int J Colorectal Dis. 2007;22(1):1–5.*
61. *Klumb EM, Pinto AC, Jesus GR, Araujo M, Jascone L, Gayer CR, et al. Are women with lupus at higher risk of HPV infection? Lupus. 2010;19(13):1485–91.*
62. *Rojo-Contreras W, Olivas-Flores EM, Gamez-Nava JI, Montoya-Fuentes H, Trujillo-Hernandez B, Trujillo X, et al. Cervical human papillomavirus infection in Mexican women with systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. Lupus. 2012;21(4):365–72.*

63. Khoo VS, Saunders MP, Gowda R, Price P, Cummings BJ. Anal canal cancer and chemoradiation treatment in two patients with systemic lupus erythematosus treated by chronic therapeutic immunosuppression. *Clin Oncol.* 2004;16(1):1–5.
64. Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR, Pierce Campbell CM, Goodman MT, Sudenga SL, et al. EUROGIN 2014 roadmap: Differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Cancer.* 2014;17;00:1–9.
65. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Jay N. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative homosexual men. *J Infect Dis.* 1998;177(2):361–7.
66. Chin-Hong P V, Vittinghoff E, Cranston RD, Buchbinder S, Cohen D, Colfax G, et al. Age-Specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *J Infect Dis.* 2004;190(12):2070–6.
67. Wong AK, Chan RC, Aggarwal N, Singh MK, Nichols WS, Bose S. Human papillomavirus genotypes in anal intraepithelial neoplasia and anal carcinoma as detected in tissue biopsies. *Mod Pathol.* 2010;23(1):144–50.
68. Škamperle M, Kocjan BJ, Maver PJ, Seme K, Poljak M. Human papillomavirus (HPV) prevalence and HPV type distribution in cervical, vulvar, and anal cancers in central and eastern Europe. *Acta Dermatovenereologica Alpina.* 2013;22(1):1–5.
69. Hoots BE, Palefsky JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. *Int J Cancer.* 2009;124(10):2375–83.
70. Castro F a, Quint W, Gonzalez P, Katki H a, Herrero R, van Doorn L-J, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection among young healthy women in Costa Rica. *J Infect Dis.* 2012;206(7):1103–10.

71. Nyitray AG, Smith D, Villa L, Lazcano-Ponce E, Abrahamsen M, Papenfuss M, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in men who have sex with women: a cross-national study. *J Infect Dis.* 2010;201(10):1498–508.
72. Valari O, Koliopoulos G, Karakitsos P, Valasoulis G, Founta C, Godevenos D, et al. Human papillomavirus DNA and mRNA positivity of the anal canal in women with lower genital tract HPV lesions: predictors and clinical implications. *Gynecol Oncol. Elsevier Inc.;* 2011;122(3):505–8.
73. Sehna B, Dusek L, Cibula D, Zima T, Halaska M, Driak D, et al. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Virol.* 2014;59(1):18–23.
74. Hessol NA, Holly EA, Efird JT, Minkoff H, Schowalter K, Darragh TM, et al. Anal intraepithelial neoplasia in a multisite study of HIV-infected and high-risk HIV-uninfected women. *AIDS.* 2009;23(1):59–70.
75. Nyitray AG, Carvalho da Silva RJ, Baggio ML, Lu B, Smith D, Abrahamsen M, et al. The Prevalence of Genital HPV and Factors Associated With Oncogenic HPV Among Men Having Sex With Men and Men Having Sex With Women and Men: The HIM Study. *Sexually Transmitted Diseases. Sex Transm Dis.* 2011;38(10):932-40.
76. Chin-Hong P V, Husnik M, Cranston RD, Colfax G, Buchbinder S, Da Costa M, et al. Anal human papillomavirus infection is associated with HIV acquisition in men who have sex with men. *AIDS.* 2009;23(9):1135–42.
77. Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Ralston ML, DaCosta MM, Botts R, et al. Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. *J Acquir immune Defic Syndr Hum retrovirology.*1998;17(4):314–9.
78. Palefsky J. Human papillomavirus infection in HIV-infected persons. *Top HIV Med.* 2007;15(4):130–3.

79. *Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Kuypers J, Daling JR, Hawes SE, et al. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. AIDS. 1995;9(11):1255–62.*
80. *Grulich AE, Li Y, McDonald A, Correll PKL, Law MG, Kaldor JM. Rates of non-AIDS-defining cancers in people with HIV infection before and after AIDS diagnosis. AIDS. 2002;16(8):1155-61.*
81. *Shiels MS, Cole SR, Kirk GD, Poole C. A Meta-Analysis of the Incidence of Non-AIDS Cancers in HIV-Infected Individuals. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009;52(5):611–22.*
82. *Uronis HE, Bendell JC. Anal cancer: an overview. Oncologist. 2007;12(5):524-34.*
83. *de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Trottier H, Vézina S, Côté P, et al. HAART and progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men and are infected with HIV. Clin Infect Dis. 2011;52(9):1174-81*
84. *Duncan KC, Chan KJ, Chiu CG, Montaner JSG, Coldman AJ, Cescon A, et al. HAART slows progression to anal cancer in HIV-infected MSM. AIDS. 2015 28;29(3):305–11.*
85. *Duncan KC, Chan KJ, Chiu CG, Montaner JSG, Coldman AJ, Cescon A, et al. HAART slows progression to anal cancer in HIV-infected MSM. AIDS. 2015 28;29(3):305-11*
86. *ECDC: HIV/AIDS surveillance in Europe 2012. Disponible en <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/hiv-aids-surveillance-report-2012-2013>. Consultado el 20/10/2015*
87. *Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e igualdad. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional*

de Casos de Sida. Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Disponible en http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2014.pdf. Consultado el 20/10/2015

88. Schäfer A, Friedmann W, Mielke M, Schwartländer B, Koch MA. The increased frequency of cervical dysplasia-neoplasia in women infected with the human immunodeficiency virus is related to the degree of immunosuppression. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164(2):593–9.
89. Castro KG, Ward JW, Slutsker L, Buehler JW, Jaffe HW, Berkelman RL, et al. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Morb Mortal Wkly Report, Natl Cent Infect Dis Div HIV/AIDS, Centers Dis Control Prev.* 1992;41(RR-17):1–19.
90. Farizo KM, Buehler JW, Chamberland ME, Whyte BM, Froelicher ES, Hopkins SG, et al. Spectrum of disease in persons with human immunodeficiency virus infection in the United States. *JAMA.* 1992;267(13):1798–805.
91. Denny L, Boa R, Williamson A-L, Allan B, Hardie D, Stan R, et al. Human papillomavirus infection and cervical disease in human immunodeficiency virus-1-infected women. *Obstet Gynecol.* 2008;111(6):1380–7.
92. Heard I, Schmitz V, Costagliola D, Orth G, Kazatchkine MD. Early regression of cervical lesions in HIV-seropositive women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS.* 1998;12(12):1459–64.
93. Schuman P, Ohmit SE, Klein RS, Duerr A, Cu-Uvin S, Jamieson DJ, et al. Longitudinal study of cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis.* 2003;188(1):128–36.
94. Patel J, Salit IE, Berry MJ, de Pokomandy A, Nathan M, Fishman F, et al. Environmental scan of anal cancer screening practices: worldwide survey results. *Cancer Med.* 2014;3(4):1052–61.

95. *Shiels MS, Pfeiffer RM, Gail MH, Hall HI, Li J, Chaturvedi AK, et al. Cancer burden in the HIV-infected population in the United States. J Natl Cancer Inst. 2011;103(9):753–62.*
96. *Melbye M, Coté TR, Kessler L, Gail M, Biggar RJ. High incidence of anal cancer among AIDS patients. The AIDS/Cancer Working Group. Lancet. 1994;343(8898):636–9.*
97. *Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, Schwartz SM, Shera KA, Wurscher MA, et al. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. Cancer. 2004;101(2):270–80.*
98. *Hernandez AL, Efird JT, Holly EA, Berry JM, Jay N, Palefsky JM. Incidence of and risk factors for type-specific anal human papillomavirus infection among HIV-positive MSM. AIDS. 2014;28(9):1341–9.*
99. *Holly EA, Ralston ML, Darragh TM, Greenblatt RM, Jay N, Palefsky JM. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. J Natl Cancer Inst. 2001;93(11):843–9.*
100. *Piketty C, Darragh TM, Heard I, Da Costa M, Bruneval P, Kazatchkine MD, et al. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive men despite the use of highly active antiretroviral therapy. Sex Transm Dis. 2004;31(2):96–9.*
101. *Daling JR, Sherman KJ, Hislop TG, Maden C, Mandelson MT, Beckmann AM, et al. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. Am J Epidemiol. 1992;135(2):180–9.*
102. *Frisch M, Glimelius B, Wohlfahrt J, Adami HO, Melbye M. Tobacco smoking as a risk factor in anal carcinoma: an antiestrogenic mechanism? J Natl Cancer Inst. 1999;91(8):708–15.*
103. *Helleberg M, Afzal S, Kronborg G, Larsen CS, Pedersen G, Pedersen C, et al. Mortality attributable to smoking among HIV-1-infected individuals: A nationwide, population-based cohort study. Clin Infect Dis. 2013;56(5):727–34.*

104. *Fenger C, Nielsen VT. Dysplastic changes in the anal canal epithelium in minor surgical specimens. Acta Pathol Microbiol Scand.1981;89(6):463–5.*
105. *Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nat Rev Cancer. 2010;10(8):550–60.*
106. *Devaraj B, Cosman BC. Expectant management of anal squamous dysplasia in patients with HIV. Dis Colon Rectum. 2006;49(1):36–40.*
107. *McCredie MRE, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. Lancet Oncol. 2008;9(5):425–34.*
108. *Sahasrabuddhe V V, Castle PE, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz LM, et al. Human papillomavirus genotype attribution and estimation of preventable fraction of anal intraepithelial neoplasia cases among HIV-infected men who have sex with men. J Infect Dis. 2013;207(3):392–401.*
109. *Burgos J, Curran A, Tallada N, Guelar A, Navarro J, Landolfi S, et al. Risk of progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM. AIDS. 2015;29(6):695–702.*
110. *Van Seters M, Van Beurden M, De Craen AJM. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. Gynecol Oncol. 2005;97(2):645–51.*
111. *Jones RW, Rowan DM, Stewart AW. Vulvar intraepithelial neoplasia: aspects of the natural history and outcome in 405 women. Obstet Gynecol. 2005;106(6):1319–26.*
112. *Scholefield JH, Castle MT, Watson NFS. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. Br J Surg. 2005;92(9):1133–6.*
113. *Dalla Praia A, Alfa-Wali M, Fox P, Holmes P, Weir J, Francis N, et al. High-resolution anoscopy screening of HIV-positive MSM: longitudinal results from a pilot study. AIDS. 2014;28(6):861–7.*

114. Cachay E, Agmas W, Mathews C. Five-year cumulative incidence of invasive anal cancer among HIV-infected patients according to baseline anal cytology results: an inception cohort analysis. *J HIV Med.* 2015;16(3):191–5.
115. Fox P. Anal cancer screening in men who have sex with men. *Curr Opin HIV AIDS.* 2009;4(1):64–7.
116. Hicks CW, Wick EC, Leeds IL, Efron JE, Gearhart SL, Safar B, et al. Patient Symptomatology in Anal Dysplasia. *JAMA Surg.* 2015;150(6):563.
117. Salit IE, Tinmouth J, Chong S, Raboud J, Diong C, Su D, et al. Screening for HIV-associated anal cancer: correlation of HPV genotypes, p16, and E6 transcripts with anal pathology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(7):1986–92.
118. Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Berry JM, Jay N, Darragh TM. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. *J Acquir immune Defic Syndr Hum retrovirology.* 1997;14(5):415–22.
119. Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng S-C, Darragh TM, Chin-Hong P V. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Dis Colon Rectum.* 2009;52(2):239–47.
120. Salit IE, Lytwyn A, Raboud J, Sano M, Chong S, Diong C, et al. The role of cytology (Pap tests) and human papillomavirus testing in anal cancer screening. *AIDS.* 2010;24(9):1307–13.
121. Camus M, Lesage A-C, Fléjou J-F, Hoyeau N, Atienza P, Etienney I. Which Lesions Should Be Biopsied During High-Resolution Anoscopy? Prospective Descriptive Study of Simple Morphological Criteria. *J Low Genit Tract Dis.* 2014;30(2):1–6.
122. Nayar R, Solomon D. Second edition of ‘The Bethesda System for reporting cervical cytology’ - atlas, website, and Bethesda interobserver reproducibility project *Cytojournal.* 2004;1(1):4.

123. *Martínez-escoriza JC. Guía de cribado de cáncer de cuello de útero en España. Rev Esp Patol. 2014;47(1):1-25*
124. *del Amo J, González C, Geskus RB, Torres M, Del Romero J, Viciano P, et al. What drives the number of high-risk human papillomavirus types in the anal canal in HIV-positive men who have sex with men? J Infect Dis. 2013;207(8):1235–41.*
125. *Watts AE, Thomas P, Bose S. Anal cytology: Is there a role for reflex HPV DNA testing? Diagn Cytopathol. 2005;33(3):152–6.*
126. *Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Angueta C, De Hierro ML, Palma P, Ramírez-Taboada J, et al. Antiretroviral therapy as a factor protective against anal dysplasia in HIV-infected males who have sex with males. PLoS One. Public Library of Science; 2014;9(3).*
127. *Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Angueta C, Lopez De Hierro M, Palma P, Ramírez-Taboada J, et al. Antiretroviral therapy as a factor protective against anal dysplasia in HIV-infected males who have sex with males. PLoS One. 2014 ;9(3):e92376.*
128. *Lam JMC, Hoch JS, Tinmouth J, Sano M, Raboud J, Salit IE. Cost-effectiveness of screening for anal precancers in HIV-positive men. AIDS. 2011;25(5):635–42.*
129. *Goldie SJ, Kuntz KM, Weinstein MC, Freedberg KA, Palefsky JM. Cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions and anal cancer in human immunodeficiency virus-negative homosexual and bisexual men. Am J Med. 2000;108(8):634-41*
130. *Aberg JA, Kaplan JE, Libman H, Emmanuel P, Anderson JR, Stone VE, et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009;49(5):651–81.*
131. *European AIDS Clinical Society. Guidelines. 2014:28(version 7.02).,2014,. Disponible en www.europeanaidsclinicalsociety.org. Consultado 10/10/2015*

132. Ong JJ, Chen M, Grulich AE, Fairley CK. *Regional and national guideline recommendations for digital ano-rectal examination as a means for anal cancer screening in HIV positive men who have sex with men: a systematic review.* *BMC Cancer.* 2014;14:557
133. New York State Department of Public health.. *HIV Clinical Resource : Neoplastic Complications Of HIV Infection.* Disponible en <http://www.hivguidelines.org/clinical-guidelines/adults/anal-dysplasia-and-cancer>. Consultado 10/10/2015.
134. Centers for Disease Control and Prevention: *HPV-Associated Cancers and Precancers - 2015 STD Treatment Guidelines.* Disponible en <http://www.cdc.gov/std/tg2015/hpv-cancer.htm>. Consultado 10/10/2015.
135. Clumeck N, Pozniak A, Raffi F. *European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults.* *HIV Med.* 2008;9(2):65–71.
136. Panel de expertos del Grupo de Estudio de SIDA e infección por VIH. *Disponible en <http://www.gesida-seimc.org>.* Consultado 10/10/2015
137. Membrilla-Fernández E, Parés D, Alameda F, Pascual M, Courtier R, Gil MJ, et al. *Anal intraepithelial neoplasia: application of a diagnostic protocol in risk patients using anal cytology.* *Cirugía española.* 2009 ;85(6):365–70.
138. Cañadas M-P, Darwich L, Sirera G, Bofill M, Piñol M, Garcia-Cuyas F, et al. *Human papillomavirus 16 integration and risk factors associated in anal samples of HIV-1 infected men.* *Sex Transm Dis.* 2010;37(5):311–5.
139. Lytwyn A, Salit IE, Raboud J, Chapman W, Darragh T, Winkler B, et al. *Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia.* *Cancer.* 2005;103(7):1447–56.
140. Ho KS, Cranston RD. *Anal cytology screening in HIV-positive men who have sex with men: what's new and what's now?* *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23(1):21–5.

141. Kreuter A, Jesse M, Potthoff A, Brockmeyer NH, Gambichler T, Stücker M, et al. Expression of proliferative biomarkers in anal intraepithelial neoplasia of HIV-positive men. *J Am Acad Dermatol*. 2010;63(3):490–8.
142. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(5):342–50.
143. Ruttkay-nedecky B, Jimenez Jimenez AM, Nejdil L, Chudobova D, Gumulec J, Masarik M, et al. Relevance of infection with human papillomavirus: The role of the p53 tumor suppressor protein and E6/E7 zinc finger proteins. *International Journal of Oncology*. *Int J Oncol*. 2013;43(6):1754–62
144. Scholefield JH, Harris D, Radcliffe A. Guidelines for Management of Anal Intraepithelial Neoplasia. *Color Dis*. 2011;13(1):3–10.
145. Richel O, de Vries HJC, van Noesel CJM, Dijkgraaf MGW, Prins JM. Comparison of imiquimod, topical fluorouracil, and electrocautery for the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men who have sex with men: An open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2013;14:346–53.
146. Individuals DH, Stier EA, Goldstone SE, Berry JM, Panther LA, Jay N, et al. Infrared Coagulator Treatment of High-Grade Anal An AIDS Malignancy Consortium Pilot Study. 2008;47(1):56–61.
147. Goldstone RN, Goldstone AB, Russ J, Goldstone SE. Long-term follow-up of infrared coagulator ablation of anal high-grade dysplasia in men who have sex with men. *Dis Colon Rectum*. 2011;54(10):1284–92.
148. Goldstone SE, Johnstone A a, Moshier EL. Long-term outcome of ablation of anal high-grade squamous intraepithelial lesions: recurrence and incidence of cancer. *Dis Colon Rectum*. 2014 Mar;57(3):316–23.
149. Kreuter A, Hochdorfer B, Stücker M, Altmeyer P, Weiland U, Conant MA, Brockmeyer NH. Treatment of anal intraepithelial neoplasia in patients with acquired HIV with imiquimod 5% cream. *J Am Acad Dermatol*. 2004;50(6):980–1

150. Wieland U, Brockmeyer NH, Weissenborn SJ, Hochdorfer B, Stücker M, Swoboda J, et al. Imiquimod treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men. *Arch Dermatol*. 2006;142(11):1438–44.
151. Fox P a, Nathan M, Francis N, Singh N, Weir J, Dixon G, et al. A double-blind, randomized controlled trial of the use of imiquimod cream for the treatment of anal canal high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive MSM on HAART, with long-term follow-up data including the use of open-label imiquimod. *AIDS*. 2010 Sep 24;24(15):2331–5.
152. Richel O, Wieland U, De Vries HJC, Brockmeyer NH, Van Noesel C, Potthoff A, et al. Topical 5-fluorouracil treatment of anal intraepithelial neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men. *Br J Dermatol*. 2010;163:1301–7.
153. Van der Snoek EM, den Hollander JC, van der Ende ME. Imiquimod 5% cream for five consecutive days a week in an HIV-infected observational cohort up to 32 weeks in the treatment of high-grade squamous intraepithelial lesions: Table 1. *Sex Transm Infect*. 2015;91(4):245–7.
154. Swedish K a, Factor SH, Goldstone SE. Prevention of recurrent high-grade anal neoplasia with quadrivalent human papillomavirus vaccination of men who have sex with men: a nonconcurrent cohort study. *Clin Infect Dis*. 2012;54(7):891–8.
155. Coskuner ER, Ozkan TA, Karakose A, Dillioglugil O, Cevik I. Impact of the quadrivalent HPV vaccine on disease recurrence in men exposed to HPV Infection: a randomized study. *J Sex Med*. 2014;11(11):2785–91.
156. Coremans G, Snoeck R. Cidofovir: clinical experience and future perspectives on an acyclic nucleoside phosphonate analog of cytosine in the treatment of refractory and premalignant HPV-associated anal lesions. *Expert Opin Pharmacother*. 2009;10(8):1343–52.
157. Zarco C, Llamas R, Postigo C, Muñoz MJ, Vanaclocha F. Experiencia preliminar con cidofovir en una consulta dermatológica de pacientes con infección por VIH. *Actas Dermosifiliogr* 1999;90:263-270.

158. *Clamp PJ, Saunders MW. Systematic review of intralesional Cidofovir dosing regimens in the treatment of recurrent respiratory papillomatosis. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2013;77(3):323-8.*
159. *Van Pachterbeke C, Bucella D, Rozenberg S, Manigart Y, Gilles C, Larsimont D, et al. Topical treatment of CIN 2+ by cidofovir: Results of a phase II, double-blind, prospective, placebo-controlled study. Gynecol Oncol. 2009;115:69-74.*
160. *Tristram A, Fiander A. Clinical responses to Cidofovir applied topically to women with high grade vulval intraepithelial neoplasia. Gynecol Oncol. 2005;99(3):652-5.*
161. *Stier EA, Goldstone SE, Einstein MH, Jay N, Berry JM, Wilkin T, et al. Safety and efficacy of topical Cidofovir to treat high-grade perianal and vulvar intraepithelial neoplasia in HIV-positive men and women. AIDS. 2013;27(4):545-51.*
162. *Andrei G, Snoeck R, Schols D, De Clercq E. Induction of apoptosis by cidofovir in human papillomavirus (HPV)-positive cells. Oncol Res. 2000;12:397-408.*
163. *Liekens S, Andrei G, Vandeputte M, De Clercq E, Neyts J. Potent inhibition of hemangioma formation in rats by the acyclic nucleoside phosphonate analogue cidofovir. Cancer Res. 1998;58:2562-7.*
164. *De Clercq E. Cidofovir in the treatment of poxvirus infections. Antiviral Research. Antiviral Res. 2002;55(1):1-13*
165. *Cundy KC, Lynch G, Lee WA. Bioavailability and metabolism of cidofovir following topical administration to rabbits. Antiviral Res. 1997;35(2):113-22.*
166. *Bourne N, Bravo FJ, Bernstein DI. Cyclic HPMPC is safe and effective against systemic guinea pig cytomegalovirus infection in immune compromised animals. Antiviral Res. 2000;47(2):103-9.*

167. *Bienvenu B, Martinez F, Devergie A, Rybojad M, Rivet J, Bellenger P, et al. Topical use of cidofovir induced acute renal failure. Transplantation. 2002;73(4):661-2*
168. *Snoeck R, Wellens W, Desloovere C, Van Ranst M, Naesens L, De Clercq E, et al. Treatment of severe laryngeal papillomatosis with intralesional injections of cidofovir [(S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine]. J Med Virol. 1998;54(3):219-25.*
169. *Broekema FI, Dikkers FG. Side-effects of cidofovir in the treatment of recurrent respiratory papillomatosis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2008;265(8):871-9.*
170. *Derkay CS, Volsky PG, Rosen CA, Pransky SM, McMurray JS, Chadha NK, et al. Current use of intralesional cidofovir for recurrent respiratory papillomatosis. Laryngoscope. 2013;123(3):705-12.*
171. *Tjon Pian Gi REA, Ilmarinen T, Van Den Heuvel ER, Aaltonen LM, Andersen J, Brunings JW, et al. Safety of intralesional cidofovir in patients with recurrent respiratory papillomatosis: An international retrospective study on 635 RRP patients. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology. 2013;270(5):1679-87.*
172. *Barnabe C, Martin B-J, Ghali WA. Systematic review and meta-analysis: anti-tumor necrosis factor α therapy and cardiovascular events in rheumatoid arthritis. Arthritis care Res. 2011;63(4):522-9.*
173. *Snoeck R, Bossens M, Parent D, Delaere B, Degreef H, Van Ranst M, et al. Phase II double-blind, placebo-controlled study of the safety and efficacy of cidofovir topical gel for the treatment of patients with human papillomavirus infection. Clin Infect Dis. 2001;33(5):597-602.*
174. *Tristram A, Hurt CN, Madden T, Powell N, Man S, Hibbitts S, et al. Activity, safety, and feasibility of cidofovir and imiquimod for treatment of vulval intraepithelial neoplasia (RT3VIN): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2014;15(12):1361-8.*
175. *Bonatti H, Aigner F, De Clercq E, Boesmueller C, Widschwendner A, Larcher C, et al. Local administration of cidofovir for human papilloma virus associated skin lesions in transplant recipients. Transpl Int. 2007;20(3):238-46.*

176. Coremans G, Margaritis V, Snoeck R, Wyndaele J, De Clercq E, Geboes K, et al. Topical cidofovir (HPMPC) is an effective adjuvant to surgical treatment of anogenital condylomata acuminata. *Dis Colon Rectum*. 2003;46(8):1103–9.
177. Park IU, Palefsky JM. Evaluation and Management of Anal Intraepithelial Neoplasia in HIV-Negative and HIV-Positive Men Who Have Sex with Men. *Curr Infect Dis Rep*. 2010;12(2):126–33.
178. Torres M, González C, Del Romero J, Viciano P, Ocampo A, Rodríguez-Fortunez P, et al. Anal human papillomavirus genotype distribution in hiv-infected men who have sex with men by geographical origin, age, and cytological status in a spanish cohort. *J Clin Microbiol*. 2013;51(11):3512–20.
179. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA*. 2007;297(8):813–9.
180. Jay N, Berry JM, Hogeboom CJ, Holly EA, Darragh TM, Palefsky JM. Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: Relationship to histopathology. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(8):919–28.
181. Jay N, Berry JM, Hogeboom CJ, Holly EA, Darragh TM, Palefsky JM. Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: relationship to histopathology. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(8):919–28.
182. Tyerman Z, Aboulafia DM. Review of screening guidelines for non-AIDS-defining malignancies: evolving issues in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS Rev*. 2012;14(1):3–16.
183. Tramujas Da Costa E Silva I, De Lima Ferreira LC, Santos Gimenez F, Gonçalves Guimarães RA, Botinelly Fujimoto L, Barbosa Cabral CR, et al. High-resolution anoscopy in the diagnosis of anal cancer precursor lesions in renal graft recipients. *Ann Surg Oncol*. 2011;48(2):1470–5.
184. Weis SE, Vecino I, Pogoda JM, Susa JS, Nevoit J, Radaford D, et al. Prevalence of anal intraepithelial neoplasia defined by anal cytology screening and high-resolution anoscopy in a primary care population of HIV-infected men and women. *Dis Colon Rectum*. 2011;54(4):433–41.

185. *Documento de Consenso del Grupo de Estudio del Sida (GESIDA)/Plan Nacional sobre el Sida (PNS) sobre las infecciones de transmisión sexual en pacientes con infección por el VIH. AIDS Study Group/Spanish AIDS Consensus Plan Doc Sex Transm Infect HIV-infected patients. 2011;29 (4):286.*
186. *Mathews C, Caperna J, Cachay ER, Cosman B. Early Impact and Performance Characteristics of an Established Anal Dysplasia Screening Program: Program Evaluation Considerations. Open AIDS J. 2007;1:11–20.*
187. *Schim van der Loeff MF, Mooij SH, Richel O, de Vries HJC, Prins JM. HPV and anal cancer in HIV-infected individuals: a review. Curr HIV/AIDS Rep. 2014 ;11(3):250–62.*
188. *Bean SM, Chhieng DC, Roberson J, Raper JL, Broker TR, Hoesley CJ, et al. Anal-rectal cytology: correlation with human papillomavirus status and biopsy diagnoses in a population of HIV-positive patients. J Low Genit Tract Dis. 2010;14(2):90–6.*
189. *Bean SM. Anal – Rectal Cytology : A Review.J Low Genit Tract Dis. 2010 ;14(2):90-6*
190. *Etienney I, Vuong S, Si-Mohamed A, Fléjou J-F, Atienza P, Bauer P. Value of cytologic Papanicolaou smears and polymerase chain reaction screening for human papillomavirus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia: Comparison with histology of a surgical sample. Cancer. 2012;118(24):6031-8*
191. *Darragh TM, Winkler B. Anal cancer and cervical cancer screening: key differences. Hansen EK, Roach M, editors. Cancer Cytopathol.2011;119(1):5–19.*
192. *Zhao C, Domfeh AB, Austin RM. Histopathologic outcomes and clinical correlations for high-risk patients screened with anal cytology. Acta Cytol. 2012;56:62–7*
193. *Ortiz M, Torres M, Muñoz L, Fernández-García E, Canals J, Cabornero AI, et al. Oncogenic human papillomavirus (HPV) type distribution and HPV*

- type 16 E6 variants in two Spanish population groups with different levels of HPV infection risk. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1428–34.
194. Richel O, Quint KD, Lindeman J, van Noesel CJM, De Koning MNC, van den Munckhof H a M, et al. One lesion, one virus: individual components of high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men contain a single HPV type. *J Infect Dis.* 2014;210(1):111–20.
 195. Pimenoff VN, Félez-Sánchez M, Tous S, Clavero O, Godínez JM, Klaustermeier J, et al. Disagreement in high-grade/low-grade intraepithelial neoplasia and high-risk/low-risk HPV infection: clinical implications for anal cancer precursor lesions in HIV-positive and HIV-negative MSM. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(6):11–605.
 196. Van der Snoek EM, van der Ende ME, den Hollander JC, Schutten M, Neumann H a M, van Doornum GJJ. Use of Highly Active Antiretroviral Therapy Is Associated With Lower Prevalence of Anal Intraepithelial Neoplastic Lesions and Lower Prevalence of Human Papillomavirus in HIV-Infected Men Who Have Sex With Men. *Sex Transm Dis.* 2012 ;39(7):495–500.
 197. Chin-Hong P V, Vittinghoff E, Cranston RD, Browne L, Buchbinder S, Colfax G, et al. Age-related prevalence of anal cancer precursors in homosexual men: the EXPLORE study. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(12):896–905.
 198. Swedish KA, Lee EQ GS. The Changing Picture of High-grade Anal Intraepithelial Neoplasia in Men Who Have Sex With Men : The Effects of 10 Years of Experience Performing High-resolution Anoscopy. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(8):1003-7
 199. Guiguet M, Boué F, Cadranet J, Lang JM, Rosenthal E, Costagliola D. Effect of immunodeficiency, HIV viral load, and antiretroviral therapy on the risk of individual malignancies (FHDH-ANRS CO4): a prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2009;10(12):1152–9.
 200. Kesselring A, Gras L, Smit C, Van Twillert G, Verbon A, De Wolf F, et al. Immunodeficiency as a risk factor for non-AIDS-defining malignancies in

- HIV-1-infected patients receiving combination antiretroviral therapy. Clin Infect Dis.* 2011;52(12):1458–65.
201. Bertisch B, Franceschi S, Lise M, Vernazza P, Keiser O, Schöni-Affolter F, et al. Risk factors for anal cancer in persons infected with HIV: a nested case-control study in the Swiss HIV Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2013;178(6):877–84.
 202. Wilkin TJ, Palmer S, Brudney KF, Chiasson MA, Wright TC. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2004;190(9):1685–91.
 203. Fagan SP, Bellows 3rd CF, Albo D, Rodriguez-Barradas M, Feanny M, Awad SS, et al. Length of human immunodeficiency virus disease and not immune status is a risk factor for development of anal carcinoma. *Am J Surg.* 2005;190(5):732–5.
 204. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Angueta C, Esquivias J, López-Castro R, Ramírez-Taboada J, et al. The Role of Polymerase Chain Reaction of High-Risk Human Papilloma Virus in the Screening of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions in the Anal Mucosa of Human Immunodeficiency Virus-Positive Males Having Sex with Males. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123590.
 205. Padilla-España L, Repiso-Jiménez B, Fernández-Sánchez F, Frieyro-Elicegui M, Fernández-Morano T, Pereda T, et al. [Usefulness of human papillomavirus testing in anal intraepithelial neoplasia screening in a risk behaviour population]. *Enferm Infecc Microbiol Clin. SEGO;* 2014;32(9):560–4.
 206. Chiao EY, Giordano TP, Palefsky JM, Tyring S, El Serag H. Screening HIV-infected individuals for anal cancer precursor lesions: a systematic review. *Clin Infect Dis.* 2006;43(2):223–33.
 207. Machalek DA, Grulich AE, Hillman RJ, Jin F, Templeton DJ, Tabrizi SN et al. The Study of the Prevention of Anal Cancer (SPANC): design and methods of a three-year prospective cohort study. *BMC Public Health.* 2013; 9;13:946.
 208. Wentzensen N, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz L, Lorey TS, et al. Human papillomavirus genotyping, human papillomavirus mRNA

- expression, and p16/Ki-67 cytology to detect anal cancer precursors in HIV-infected MSM. *AIDS*. 2012;26(17):2185–92.
209. Burger EA, Kornør H, Klemp M, Lauvrak V, Kristiansen IS. HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. *Gynecol Oncol*. 2011;120(3):430–8.
 210. Möckel J, Quaas J, Meisel H, Endres AS, Schneider V. Human papillomavirus E6/E7 mRNA testing has higher specificity than liquid-based DNA testing in the evaluation of cervical intraepithelial neoplasia. *Anal Quant Cytol Histol*. 2011;33:311–5.
 211. Pierry D, Weiss G, Lack B, Chen V, Fusco J. Intracellular human papillomavirus E6, E7 mRNA quantification predicts CIN 2+ in cervical biopsies better than Papanicolaou screening for women regardless of age. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(8):956–60.
 212. Silling S, Kreuter A, Hellmich M, Swoboda J, Pfister H, Wieland U. Human papillomavirus oncogene mRNA testing for the detection of anal dysplasia in HIV-positive men who have sex with men. *J Clin Virol*.;2012;53(4):325–31.
 213. Phanuphak N, Teeratakulpisarn N, Keelawat S, Pankam T, Barisri J, Triratanachai S, et al. Use of human papillomavirus DNA, E6/E7 mRNA, and p16 immunocytochemistry to detect and predict anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men. *PLoS One*. 2013;8(11):e78291.
 214. Dupin C, Siproudhis L, Henno S, Minjolle S, Arvieux C, Tattevin P. Use of human papillomavirus genotyping and biomarkers for targeted screening of anal dysplasia in human immunodeficiency virus-infected patients. *Gastroenterologica Italiana*; 2015;47(5):423–8.
 215. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. *Int J Cancer*. 2009;124(7):1626–36.

216. Szarewski A, Ambroisine L, Cadman L, Austin J, Ho L, Terry G, et al. *Comparison of predictors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(11):3033–42.
217. Broccolo F, Fusetti L, Rosini S, Caraceni D, Zappacosta R, Ciccocioppo L, et al. *Comparison of oncogenic HPV type-specific viral DNA load and E6/E7 mRNA detection in cervical samples: Results from a multicenter study. J Med Virol.* 2013;85(3):472–82.
218. Wentzensen N, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz L, Lorey TS, et al. *Human papillomavirus genotyping, human papillomavirus mRNA expression, and p16/Ki-67 cytology to detect anal cancer precursors in HIV-infected MSM. AIDS.* 2012;26(17):2185-92
219. Pierry D, Weiss G, Lack B, Fusco J, Chen V. *Intracellular Human Papillomavirus E6, E7 mRNA Quantification Predicts CIN 2+ in Cervical Biopsies Better Than Papanicolaou Screening for Women Regardless of Age. Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(8):956-60.
220. Chang GJ, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. *Surgical treatment of high-grade anal squamous intraepithelial lesions: A prospective study. Dis Colon Rectum.* 2002;45(4):453–8.
221. Van der Snoek EM, den Hollander JC, Aans JB, Sterenborg HJ, van der Ende ME, Robinson DJ. *Photodynamic therapy with systemic meta-tetrahydroxyphenylchlorin in the treatment of anal intraepithelial neoplasia, grade 3. Lasers Surg Med.* 2012;44(8):637–44.
222. Macaya A, Muñoz-Santos C, Balaguer A, Barberà MJ. *Interventions for anal canal intraepithelial neoplasia. Cochrane database Syst Rev.* 2012;12:CD009244.
223. Weis SE, Vecino I, Pogoda JM, Susa JS. *Treatment of high-grade anal intraepithelial neoplasia with infrared coagulation in a primary care population of HIV-infected men and women. Dis Colon Rectum.* 2012;55(12):1236–43.

224. *Pineda CE, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. High-resolution anoscopy targeted surgical destruction of anal high-grade squamous intraepithelial lesions: A ten-year experience. Dis Colon Rectum. 2008;51(6):829–35.*
225. *Crawshaw B, Russ A, Stein S, Reynolds H, Marderstein E, Delaney C, et al. High-resolution anoscopy or expectant management for anal intraepithelial neoplasia for the prevention of anal cancer: is there really a difference? Dis Colon Rectum. 2015;58(1):53–9.*
226. *Cusini M, Salmaso F, Zerboni R, Carminati G, Vernaci C, Franchi C, et al. 5% Imiquimod cream for external anogenital warts in HIV-infected patients under HAART therapy. Int J STD AIDS. 2004;15(1):17–20.*

7. ÍNDICE DE TABLAS

7. ÍNDICE DE TABLAS

1. Tasa de nuevos diagnósticos de VIH anuales por categoría de transmisión. España, 2008-2013	26
2. Esquema de los tratamientos utilizados para el HSIL anal	46
3. Esquema de visitas según protocolo del ensayo CIDAN12	78
4. Variables relacionadas con la infección VIH.	83
5. Hábitos sexuales de los pacientes de la cohorte del estudio	84
6. Antecedente de enfermedades de transmisión sexual.....	85
7. Correlación entre los resultados citológicos e histológicos.	86
8. Resultados del análisis de VPH	86
9. Factores de riesgo para la presencia de SIL.....	89
10. Variables asociadas al diagnóstico HSIL	90
11. Resultado de los hallazgos citológicos	91
12. Resultados histológicos tras AAR.....	92
13. Correlación entre los hallazgos citológicos e histológicos	93
14. Resultados de las pruebas de cribado	94
15. Evaluación características como test de cribado de las técnicas estudiadas.....	95
16. Discrepancias entre el RNAm de E6/E7 y la detección de DNA de VPH-AR.....	96
17. Características demográficas y de la infección por VIH.....	97
18. Evolución de los pacientes en la semana 12 y 24	99
19. Número y porcentaje de pacientes que presentaron efectos adversos locales y su severidad según CTCAE	101

8. ÍNDICE DE FIGURAS

8. ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Esquema anatómico del canal anal	30
2.	Población de riesgo a la que recomendar el cribado de HSIL	39
3.	Algoritmo adaptado con permiso del Dr. JM. Palefsky	40
4.	Esquema de la integración viral y su repercusión en la sobreexpresión de E6/E7	45
5.	Estructura química del cidofovir.....	49
6.	Diagrama de flujo que muestra el proceso de reclutamiento de los pacientes de CIDAN12 ...	74
7.	Porcentaje de pacientes positivos para el test de cada ARN m	92
8.	Curva ROC y área bajo la curva (ABC) para los tres test evaluados	96

